



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DAS ÁGUAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE -PPGBEES

DARLISON CHAGAS DE SOUZA

METAZOÁRIOS PARASITOS DE *Plagioscion squamosissimus*
(HECKEL, 1840) (OSTEICHTHYES: SCIAENIDAE) DE
LAGOS DE VÁRZEA DA AMAZÔNIA BRASILEIRA

Santarém - PA

2019

DARLISON CHAGAS DE SOUZA

**METAZOÁRIOS PARASITOS DE *Plagioscion squamosissimus*
(HECKEL, 1840) (OSTEICHTHYES: SCIAENIDAE) DE
LAGOS DE VÁRZEA DA AMAZÔNIA BRASILEIRA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Biodiversidade para obtenção do grau de mestre em Ciências Biológicas área de concentração Biodiversidade. Orientador: Dr. Lincoln Lima Correa.

Santarém - PA

2019

DARLISON CHAGAS DE SOUZA

**METAZOÁRIOS PARASITOS DE *Plagioscion squamosissimus*
(HECKEL, 1840) (OSTEICHTHYES: SCIAENIDAE) DE
LAGOS DE VÁRZEA DA AMAZÔNIA BRASILEIRA**

Conceito:

Data de Aprovação ___/___/___

Orientador: Dr. Lincoln Lima Correa.

Universidade Federal do Oeste do Pará.

Dr. José Amir Morais da Rocha

Universidade Federal do Oeste do Pará.

Dr. Marcos Tavares-Dias

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária



Universidade Federal do Oeste do Pará
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE

ATA Nº 1

Em acordo com o Regimento do Programa de Pós Graduação em Biodiversidade da Universidade Federal do Oeste do Pará, a dissertação de mestrado é julgada por uma Banca Avaliadora não presencial, constituída por três avaliadores titulares, sendo um deles obrigatoriamente externo ao curso, com título de doutor ou equivalente (Artigo 57 do referido regimento), e dois suplentes. O acadêmico é considerado aprovado quando ao menos dois membros avaliadores emitirem pareceres Aprovado ou Aprovado com Correções. Alternativamente, o acadêmico que comprovar o aceite ou a publicação de pelo menos um artigo resultante da sua dissertação, como primeiro autor, em co-autoria com orientador (ou orientador e co-orientador quando for o caso) em periódico avaliado pela CAPES, no sistema Periódico Qualis, nível A2 ou superior na área de biodiversidade, será dispensado da avaliação da dissertação, cabendo ao discente apenas a apresentação pública do trabalho (Artigo 59). O acadêmico que tiver sua dissertação aprovada deverá apresentá-la em sessão pública com duração entre 40 e 50 minutos, no prazo máximo de vínculo com o curso, ou seja, 24 meses desde o ingresso, a que se refere essa ata, de acordo com o Artigo 65 do Regimento do PPGBEES.

Assim, aos trinta dias do mês de julho do ano de dois mil e dezenove, às 15h30min, no auditório da Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-graduação e Inovação Tecnológica (PROPPIT), instalou-se a apresentação de seminário público da dissertação de mestrado do aluno Darlison Chagas de Souza. Deu-se início a abertura dos trabalhos, onde o Professor Dr Rodrigo Ferreira Fadini (coordenador em exercício), após esclarecer as normativas de tramitação da defesa e seminário público, de imediato solicitou ao candidato que iniciasse a apresentação da dissertação, intitulada *METAZOÁRIOS PARASITOS DE Plagioscion squamosissimus (HECKEL, 1840) (OSTEICHTHYES: SCIAENIDAE) DE LAGOS DE VÁRZEA DA AMAZÔNIA BRASILEIRA*". Concluída a exposição, o coordenador em exercício comunicou ao discente que a versão final da dissertação deverá ser entregue ao programa, no prazo de 30 dias; contendo as modificações sugeridas pela banca examinadora e constante nos formulários de avaliação da banca.

A banca examinadora foi composta pelos examinadores professores doutores listados abaixo. Os pareceres assinados seguem em sequência.

LINCOLN LIMA CORREA

Orientador

DARLISON CHAGAS DE SOUZA

Discente



Universidade Federal do Oeste do Pará
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE

Dr. MARCOS TAVARES DIAS, EMBRAPA

Examinador Externo à Instituição

Dr. JULIO CESAR CENCI DE AGUIAR, UNIFESP

Examinador Externo à Instituição

Dr. JOSE ALMIR MORAES DA ROCHA, UFOPA

Examinador Externo ao Programa

DARLISON CHAGAS DE SOUZA

Mestrando



Universidade Federal do Oeste do Pará

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE

FOLHA DE CORREÇÕES

ATA Nº 1

Autor: DARLISON CHAGAS DE SOUZA

Título: METAZOÁRIOS PARASITOS DE *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840)
(OSTEICHTHYES: SCIAENIDAE) DE LAGOS DE VÁRZEA DA AMAZÔNIA
BRASILEIRA

Banca examinadora:

Prof. MARCOS TAVARES DIAS

Examinador Externo à Instituição

Prof. JULIO CESAR CENCI DE AGUIAR

Examinador Externo à Instituição

Prof. JOSE ALMIR MORAES DA ROCHA

Examinador Externo ao
Programa

Os itens abaixo deverão ser modificados, conforme sugestão da banca

1. INTRODUÇÃO
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA
3. METODOLOGIA
4. RESULTADOS OBTIDOS
5. CONCLUSÕES

COMENTÁRIOS GERAIS:

Declaro, para fins de homologação, que as modificações, sugeridas pela banca examinadora, acima mencionada, foram cumpridas integralmente.

Prof. LINCOLN LIMA CORREA

Orientador(a)

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA

S729m Souza, Darlison Chagas de
Metazoários parasitos de *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) (OSTEICHTHYES: SCIAENIDAE) de lagos de várzea da Amazônia brasileira./ Darlison Chagas de Souza. – Santarém, 2019.
58 p.: il.
Inclui bibliografias.

Orientador: Lincoln Lima Correa
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade.

1. Endoparasitas. 2. Metazoários. 3. Corvina. I. Correa, Lincoln Lima, *orient.* II. Título.

CDD: 23 ed. 632.3098115

Bibliotecário - Documentalista: Renata Ferreira – CRB/2 1440

Aos meus Pais, Esposa e Amigos, pelo apoio incondicional.

“Qualquer parasitologista no mundo daria uma das mãos para estudar parasitologia na Amazônia brasileira.”

Ralph Lanson.

RESUMO

Este estudo tem o objetivo de investigar a fauna parasitária de *Plagioscion squamosissimus* em dois rios da Amazônia brasileira e apresentar a caracterização morfológica e molecular do nematoídeo *Anisakis* sp. Foram coletados 75 espécimes de *P. squamosissimus* no Lago grande do Curuáí, e na Foz do rio Tapajós. Esse estudo foi dividido em dois momentos, produzindo assim dois capítulos nessa dissertação. O primeiro capítulo descreve metazoários onde revelaram a presença de 16 espécies de parasitas, sendo três Myxozoários (*Myxobolus* sp., *Ceratomyxa* sp., *Henneguya* sp.), dois Trematódeos (*Austodiplostomum compactum*, *Digenea* gen. sp. (metacercariae), duas espécies de monogêneas (*Diplectanum* sp., *Euryhaliotrema* sp.), três nematóides (*Procamallanus* (S) sp., *Anisakis* sp., *Pseudoproleptus* sp. (larva), dois Acanthocephalas (*Rhadinorhynchus plagioscionis* e *Neoechinorhynchus* sp.), um Cestoda e três crustáceos (*Therodamas* sp., *Ergasilus* sp., *Dolops* sp.). Os hospedeiros coletados no rio Tapajós apresentaram uma menor diversidade de metazoários parasitas ($H = 0,531$) quando comparados com os indivíduos provenientes do rio Amazonas ($H = 0,991$). O teste de Mann-Whitney não apresentou diferenças entre o Kn observado e o Kn padrão (1,00) ($U = 0,14$, $p = 0,88$). No segundo capítulo os helmintos encontrados e identificados do gênero *Anisakis* foram utilizados para caracterização morfométrica, mensurados e submetidos a identificação molecular baseando-se no sequenciamento dos genes 18S e COX1. *Anisakis* spp. parasitas de *P. squamosissimus* não foi caracterizado compativelmente com a literatura existente, as análises moleculares sugerem a existência de um grupo de espécies crípticas nas duas regiões onde foram coletados os peixes.

Palavras-Chave: Endoparasitas, Metazoários, Corvina, Brasil, Amazônia.

ABSTRACT

This study aims to investigate the parasitic fauna of *Plagioscion squamosissimus* in two of the Brazilian Amazon's rivers and to present the morphological and molecular characterization of the nematode *Anisakis* sp. There were collected 75 specimens of *P. squamosissimus* at the Curuáí's Great Lake, and at the river mouth of the Tapajós river. This study was divided in two parts, thus producing two chapters in this dissertation. The first section describes metazoans which revealed the presence of 16 species of parasites, being them three myxozoans (*Myxobolus* sp. *Ceratomyxa* sp. *Henneguya* sp.), two Trematodes (*Austodiplostomum compactum*, *Digeneans* gen. sp. (Metacercariae), two species of monogeneous (*Diplectanum* sp., *Euryhaliotrema* sp.), two nematodes (*Procamallanus* (S) sp. *Anisakis* sp., *Pseudoproleptus* sp. (larva), two Acanthocephalas (*Rhadinorhynchus plagioscionis* e *Neoechinorhynchus* sp.), one Cestoda and three crustaceans (*Therodamas* sp. *Ergasilus* sp. *Dolops* sp.). The hosts collected in Tapajós river had a lower range of metazoan parasites ($H = 0.531$) compared to individuals from the Amazon ($H = 0.991$). The Mann-Whitney test showed no differences between observed K_n and the standard K_n (1.00) ($U = 0.14$, $p = 0.88$). Then in the second chapter, the found and identified helminths from the *Anisakis* genus were used for morphometric characterization, measured and submitted to molecular identification based on the sequencing of 18S and COX1 genes. *Anisakis* spp., a parasite of *P. squamosissimus*, was not characterized compatible in the existent literature. The molecular analyzes suggest the existence of a group of cryptic species in the two regions where the fishes were collected.

Keywords: Endoparasites, Metazoans, Corvina, Brazil, Amazon.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - <i>Plagioscion squamosissimus</i>	1
Figura 2 - Pontos de coleta. A Foz do rio Tapajós, B Lago grande do Curuáí/rio Amazonas.....	2
CAP-1 Fig. 1 - Local e pontos de coleta dos peixes da espécie <i>P. squamosissimus</i> na Amazônia brasileira.....	20
CAP-1 Fig. 2 - <i>Plagioscion squamosissimus</i> coletado na foz do rio Tapajós.....	21
CAP-1 Fig. 3 Gráfico de dispersão da análise de componentes principais (PCA) das infra comunidades parasitas de <i>P. squamosissimus</i> em dois rios da Amazônia brasileira.....	22
CAP-2 Fig. 1. Fig. 1. Mapa de localização dos locais de coleta de <i>P. squamosissimus</i> . Ponto A-lago grande do Curuáí e Ponto B- foz do rio Tapajós.....	38
CAP-2 Fig. 2. Larva de terceiro estágio de <i>Anisakis</i> sp. parasita de <i>Plagioscion squamosissimus</i> . A Visão geral da região anterior. B Extremidade anterior com espinho larval presente. C Região posterior mucro terminal presente.....	39
CAP -2 Fig. 3. Morfologia interna e externa de larva de <i>Anisakis</i> sp. (NA - Anel Nervoso, E – Esôfago, V – Ventrículo, DE - Dente Larval, PE – Poro excretor, M – Mucro terminal).....	40
CAP-2 Fig. 4. Dendrograma de similaridade morfométrica entre larvas de terceiro estágio de <i>Anisakis</i> spp.....	41
CAP-2 Fig. 5. Árvore Máxima Verossimilhança de <i>Anisakis</i> sp. com outras espécies de Nematoda baseado no 18S rDNA, disponíveis no GenBank. Números acima dos ramos indicam o nível de confiabilidade. (-) valores inferiores a 50.....	42
CAP-2 Fig. 6. Árvore Máxima Verossimilhança de espécies de <i>Anisakis</i> baseado no COX1, disponíveis no GenBank. Números acima dos ramos indicam o nível de confiabilidade. (-) valores inferiores a 50.....	43

LISTA DE TABELAS

CAP-1 Tabela 1. Metazoários parasitas de <i>Plagioscion squamosissimus</i> na Amazônia oriental, norte do Brasil. Prevalência (P%), Intensidade Média (IM), Abundância Média (AM), Número total de Parasitas (NTP), Sitio de Infecção (SI).....	23
CAP-1 Tabela 2. Índice de dispersão (ID), Estatístico -d (d) e Índice de discrepância (D) para metazoários parasitas de <i>Plagioscion squamosissimus</i> na Amazônia, norte do Brasil.....	24
CAP-2 Tabela 1. Morfometria de larvas de terceiro estágio de <i>Anisakis</i> sp. Comprimento do corpo - CC, Largura do Corpo – LC, Distância entre o anel nervoso e a extremidade anterior – DA/EA, Comprimento do esôfago – CE, Comprimento do Ventrículo – CV, Distância entre o anel nervoso e o ventrículo DA/V, (medidas em mm).....	44
CAP-2 Tabela 2. Valores de contingência para análise de similaridade morfométrica de larvas de <i>Anisakis</i> spp.....	45
CAP-2 Tabela 3. Matriz de similaridade, baseada na estimativa das divergências evolutivas entre as sequências de 18S rDNA das espécies de <i>Anisakis</i> . O triângulo superior corresponde ao número de bases que difere entre as espécies e o triângulo inferior corresponde à diferença genética em porcentagem entre as espécies.....	46

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

AM - Abundância Média

AV – Avenida

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

COX1- Cromossomo oxidase subunidade 1

CT – Comprimento Total

D - Índice de discrepância

Fig. – Figura

g – Gramas

H - Índice de diversidade de Shannon

ICTA - Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas

ID - Índices de dispersão

IM - Intensidade Média

ISSN - International Standard Serial Number

Kn - Fator de condição relativa

NTP - Número total de Parasitas

P% - Prevalência

PCA - Análise de componentes principais

PPGBEES - Programa de Pós-graduação em Biodiversidade

rDNA - Ácido desoxirribonucleico ribossômico

rs - Coeficiente de Spearman

SI - Sítio de Infecção

SISBIO - Sistema de Autorização e Informação da Biodiversidade

UFOPA - Universidade Federal do Oeste do Pará

UNIFESP - Universidade Federal de São Paulo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 QUAL É O PROBLEMA DA PESQUISA?	1
1.2 COMO É FEITA A PESQUISA?	1
1.3 QUAL A IMPORTÂNCIA DA PESQUISA?	2
1.4 AUTORES	3
1.5 INSTITUIÇÃO	3
1.6 SUGESTÕES DE LEITURA.....	3
2 CAPÍTULO 1	4
2.1 METAZOÁRIOS PARASITOS DE <i>Plagioscion squamosissimus</i> (OSTEICHTHYES: SCIAENIDAE) DA AMAZÔNIA ORIENTAL (BRASIL)	5
2.2 Sumário	5
2.3 INTRODUÇÃO	7
2.4 MATERIAIS E MÉTODOS	8
2.4.1 Captura dos hospedeiros	8
2.4.2 Triagem e identificação de parasitas	8
2.4.3 Análise estatística	9
2.5 RESULTADOS.....	9
2.6 DISCUSSÃO.....	11
2.7 CONFLITO DE INTERESSE.....	14
2.8 REFERÊNCIAS.....	14
3 CAPÍTULO 2	25
3.1 Caracterização morfológica e molecular de <i>Anisakis</i> sp. parasita de <i>Plagioscion squamosissimus</i> da região do baixo Amazonas, Amazônia Brasil.....	26
3.2 RESUMO	26
3.3 INTRODUÇÃO	27
3.4 METODOLOGIA	28
3.4.1 Caracterização Morfológica	28
3.4.2 Extração de DNA, amplificação e sequenciamento	29
3.5 RESULTADOS	30
3.5.1 Descrição morfométrica	30

3.5.2 Descrição geral.....	30
3.5.3 Caracterização molecular e filogenia.....	31
3.6 DISCUSSÃO.....	32
3.7 AGRADECIMENTOS.....	34
3.8 REFERÊNCIAS.....	34

Metazoários parasitos de *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) (OSTEICHTHYES: SCIAENIDAE) de lagos de várzea da Amazônia brasileira

Qual é o problema da pesquisa?

Neste contexto *Plagioscion squamosissimus* conhecida como “pescada branca” ou “Corvina” (Figura 1), que apresenta ampla distribuição em rios da América do Sul, com espécimes introduzidos em rios e reservatórios no nordeste brasileiro, surge como um dos principais recursos pesqueiros na região amazônica, estando entre as espécies de pescado mais consumidas. Esses peixes podem apresentar uma variada fauna parasitária que está diretamente relacionada ao seu comportamento alimentar.

No entanto aspectos relacionados a diversidade parasitária que acomete estes peixes na região amazônica ainda são escassos, devido ao número reduzido de pesquisadores da ictioparasitologia e ainda pelas peculiaridades logísticas da região, que apresenta características extremamente variadas, dificultando e mesmo impossibilitando amostragem em regiões de difícil acesso. Devido a sua importância comercial, com aspectos esportivos e para o consumo humano, o conhecimento da fauna parasitária desses peixes pode ajudar em sua preservação como recurso pesqueiro, esclarecendo aspectos das relações parasitos hospedeiros.

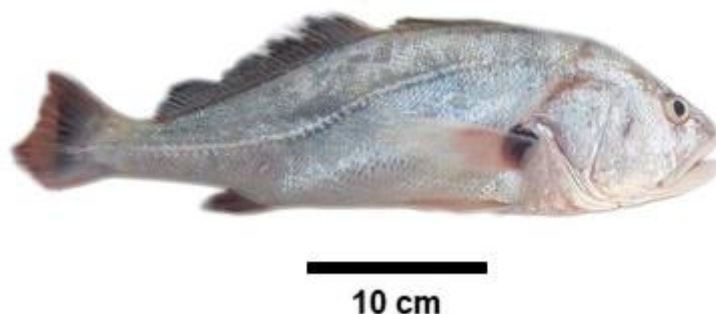


Figura 1. *Plagioscion squamosissimus*

Como a pesquisa foi realizada?

Um total de 75 peixes da espécie *Plagioscion squamosissimus* conhecida como “Pescada Branca” ou “Corvina” foram capturadas em dois rios da Amazônia brasileira, no lago grande do Curuáí no Rio Amazonas e na Foz do Rio Tapajós (Figura 2), ambos no estado do Pará. Para a realização de pesquisa parasitológica foram retirados os olhos, brânquias, intestino, vesicular biliar e rins, sendo examinados com auxílio de microscópios e esteromicroscópios, no próprio local de coleta. Todos os parasitas encontrados foram acondicionados em recipientes plásticos contendo álcool, para preservação de características morfológicas e informações genéticas. Os parasitas foram

enviados a Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, para identificação a nível de espécie com base em características morfológicas. Após a determinação das espécies parasitas os dados referentes a número de espécies e de espécimes foi utilizado para análises estatísticas que indicam o comportamento das comunidades parasitárias nos peixes hospedeiros.

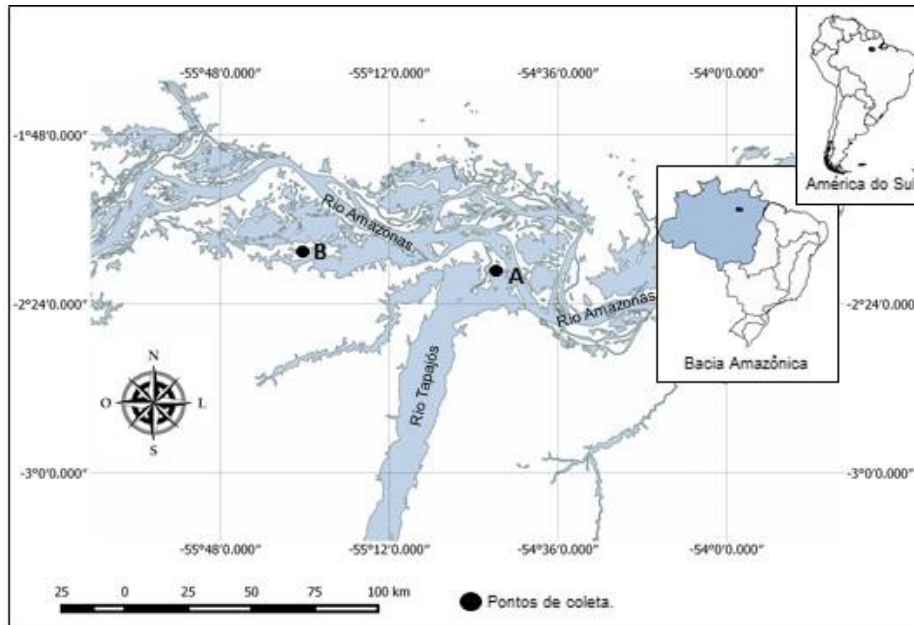


Figura 2. Pontos de coleta. **A** Foz do rio Tapajós, **B** Lago grande do Curuáí/ rio Amazonas.

Qual a importância da pesquisa?

O conhecimento da diversidade de parasitos que podem acometer peixes da região amazônica, colabora para o entendimento de aspectos relacionadas a diversidade de espécies parasitos, bem como para aspectos relacionados a saúde humana, uma vez que determinadas espécies parasitos, principalmente nematoides, podem causar diversas manifestações clínicas, variando de sintomas leves como náuseas e vômito, resultante da intoxicação alimentar. Porém, há casos mais graves, causados por obstruções e perfurações intestinais, podendo resultar na morte do homem infectado.

Outro importante aspecto do estudo de parasitos é o entendimento das consequências da relação parasita hospedeiro, dos danos fisiológicos e físicos que estes parasitos podem causar a seus hospedeiros em ambientes naturais, que podem comprometer a pesca.

Autores: Darlison Chagas de Souza, Lincoln Lima Correa.

Instituição: Universidade Federal do Oeste do Pará.

Sugestões de leitura:

Luque, JL. 2004. Biologia, epidemiologia e controle de parasitos de peixes. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 13(Supl 1), 161-165.

Paraguassú AR, Luque JL. 2007. Metazoários parasitos de seis espécies de peixes do reservatório de Lajes, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 16(3), 121-128.

Lacerda ACF, Yamada FH, Antonucci AM, Tavares-Dias M. 2013. Peixes introduzidos e seus parasitos. Embrapa Amapá.

Thatcher VE. 1991. Amazon fish parasites. Amazoniana, 11(3/4), 263-572.

Capítulo 1

Título: Metazoários parasitos de *Plagioscion squamosissimus* (Osteichthyes: Sciaenidae) da Amazônia oriental (Brasil)

Formatação de acordo com:

Helminthologia.

QUALIS CAPES: B2.

Fator de Impacto 2017: 0.417.

ISSN 0440-6605.

eISSN 1336-9083.

1 **Metazoários parasitos de *Plagioscion squamosissimus* (Osteichthyes: Sciaenidae) da**
2 **Amazônia oriental (Brasil)**

3

4 Darlison Chagas de Souza¹, Edson A. Adriano², Lincoln Lima Correa³

5

6 ¹Programa de Pós-graduação em Biodiversidade (PPGBEES), Universidade Federal do
7 Oeste do Pará. Avenida Mendonça Furtado, nº 2946, Fátima, CEP 68040-470, Santarém,
8 PA, Brasil. Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas - ICTA, Santarém, PA, Brasil.
9 E-mail: darlisoncds@hotmail.com.

10 ²Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP),
11 Rua Professor Artur Riedel, 275, Jardim Eldorado, CEP 09972-270, Diadema, SP, Brasil.

12 ³Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA, Avenida Mendonça Furtado, nº 2946,
13 Fátima, CEP 68040-470, Santarém, PA, Brasil. Instituto de Ciências e Tecnologia das
14 Águas - ICTA, Santarém, PA, Brasil.

15

16 **Sumário**

17

18 *Plagioscion squamosissimus* é comumente conhecido como “pescada branca” ou
19 “corvina” e está entre os peixes de maior importância comercial na Amazônia, sendo
20 hospedeira de uma grande diversidade de endoparasitos. Neste sentido o presente estudo
21 teve o objetivo de investigar as comunidades e infracomunidades de parasitos
22 metazoários que acometem *Plagioscion squamosissimus* em dois rios da Amazônia
23 oriental brasileira. Foram coletados 75 espécimes de *P. squamosissimus* no Lago grande
24 do Curuáí, e na Foz do rio Tapajós. As análises morfológicas revelaram a presença de 16
25 espécies parasitas, sendo três Myxozoários (*Myxobolus* sp., *Ceratomyxa* sp., *Henneguya*
26 sp.), dois Trematódeos (*Austodiplostomum compactum*, *Digenea* gen. sp.
27 (metacercariae), duas espécies de monogêneas (*Diplectanum* sp., *Euryhaliotrema* sp.),
28 três nematóides (*Procamallanus* (S) sp. *Anisakis* sp., *Pseudopropleptus* sp. (larva), dois
29 Acanthocephalas (*Rhadinorhynchus plagioscionis* e *Neoechinorhynchus* sp.), um
30 Cestoda e três crustáceos (*Therodamas* sp., *Ergasilus* sp., *Dolops* sp.) Seis novos registros

1 de parasitas para *P. squamosissimus*, foram realizados, sendo três myxozoários, um
2 nematóide e dois crustáceos. Apesar do número crescendo de estudos relacionadas a
3 diversidade parasitária, muitos grupos de parasitas ainda apresentam incongruências
4 taxonômicas devida a limitações na identificação taxonômica tradicional, sendo
5 necessária aplicação conjunta de ferramentas moleculares.

6 **Palavras-Chave:** Endoparasitas, Metazoários, Corvina, Brasil, Amazônia.

1 **Introdução**

2 *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) é um peixe dulcícola da família
3 Sciaenidae conhecido como “corvina” ou “Pescada Branca”. É endêmico da América do
4 Sul, com distribuição natural para os rios Magdalena, Amazonas, Orinoco e Paraná, sendo
5 que alguns espécimes foram introduzidos no Rio São Francisco e em reservatórios
6 artificiais no nordeste do Brasil (Pavanelli *et al.*, 2013; Casatti 2005; Tavares *et al.*, 2007).
7 A pescada branca tem importante papel econômico e ambiental na Amazônia, sendo uma
8 das espécies mais comercializadas, estando entre as 12 espécies de água doce continental
9 mais exploradas pela pesca comercial (MPA 2013; Melo *et al.*, 2014; Rabelo *et al.*, 2017).

10 Uma diversidade bastante variada de parasitas já foram registradas em associação
11 com *P. squamosissimus* na América do sul, como Myxozoários dos gêneros *Kudoa*
12 (Oliveira *et al.*, 2015). Nematóides dos gêneros *Contraecum*, *Terranova*,
13 *Procamallanus*, *Thynnascaris* e *Anisakis* (Martins *et al.*, 2000; Tavares *et al.*, 2007;
14 Lacerda *et al.*, 2012; Melo *et al.*, 2014; Fontenelle *et al.*, 2016). Digeneas *Diplostomum*
15 e *Brasicystis* (Thatchet 1979; Machado *et al.*, 2005; Paes *et al.*, 2010; Melo *et al.*, 2013;
16 Ramos *et al.*, 2014; Lopera *et al.*, 2017). Monogeneas dos gêneros *Aetheolabes*,
17 *Diplectanum* e *Euryhaliotrema* (Tavernari *et al.*, 2005; Domingues 2008; Boeger and
18 Kritsky 2009). Acanthocephalas *Rhadinorhynchus* e *Neoechinorhynchus* (Thatcher 1980;
19 Lacerda *et al.*, 2012a). Cestódeas *Ptychobothriidae* (Woodland 1935) e crustáceos
20 (Amado *et al.*, 1996). Porém, não há estudos sobre os parasitos de *P. squamosissimus* dos
21 rios Amazonas e Tapajós, na região da Amazônia oriental brasileira

22 A diversidade parasitária que acomete a pescada branca, está diretamente
23 relacionada ao seu comportamento alimentar, onde larvas de mariscos, insetos aquáticos,
24 copépodos, crustáceos e outros peixes são consumidos, sendo estes hospedeiros
25 intermediários ou paratênicos de diversos parasitas (Fontenelle *et al.*, 2016; Pavanelli *et*
26 *al.*, 2013; Eiras 2010).

27 Neste sentido, o estudo das infracomunidades de parasitas e sua relação com os
28 hospedeiros são de grande relevância para a compreensão dos ecossistemas aquáticos,
29 uma vez que estes parasitas agem na regulação das populações hospedeiras, e ainda
30 devido ao impacto que as parasitoses podem causar sobre peixes em regime de cultivo e
31 os riscos que podem oferecer a população humana (Azevedo *et al.*, 2006; Tavares-Dias
32 *et al.*, 2013). O presente estudo teve o objetivo de investigar as comunidades e

1 infracomunidades de parasitos que acometem *Plagioscion squamosissimus* em dois rios
2 da Amazônia oriental brasileira.

3

4 **Material e Métodos**

5 **Captura dos hospedeiros**

6 Durante cinco dias consecutivos em agosto de 2017 e março de 2018, foram
7 coletados 75 espécimes de *P. squamosissimus* (comprimento médio $27,8 \pm 10,18$, peso
8 médio $395,65 \pm 355,78$ g) em dois pontos da bacia hidrográfica amazônica, no estado do
9 Pará, Brasil. O ponto de coleta (A) está localizado no lago grande do Curuáí/ rio
10 Amazonas, um complexo lacustre composto por aproximadamente 30 lagos rasos que
11 atinge áreas de campina, savana e floresta (Martinez et al. 2007). O ponto de coleta (B)
12 está situado na foz do rio Tapajós, em uma localidade denominada Enseada Grande, que
13 é caracterizada como uma planície de inundação que sofre variação sazonal (Fig. 1).

14

15 **Fig. 1** Local e pontos de coleta dos peixes da espécie *P. squamosissimus* na Amazônia
16 brasileira.

17

18 A captura dos hospedeiros foi autorizada pelo Sistema de Autorização e
19 Informação da Biodiversidade (SISBIO) número 62384-2, estando os procedimentos de
20 acordo com o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA, aprovado pelo
21 comitê de Ética de uso Animal da Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA,
22 certificado 0420180027 e cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio
23 Genético e do Conhecimento Tradicional Associado do governo brasileiro no número
24 A0A0058.

25 Após coletados os espécimes foram eutanásias pelo método de transecção da
26 coluna vertebral, tendo comprimento total – CT (cm) e peso total - PT (g) aferidos. Os
27 parasitas encontrados foram fixados em álcool 70% e encaminhados a UFOPA, onde
28 foram tratados e processados conforme Eiras *et al.*, (2006) e Amato *et al.*, (1991), sendo
29 identificados segundo Yamaguti & Ward (1963), Travassos *et al.*, (1969), Thatcher
30 (1991), Kohn *et al.*, (2007), Gibson *et al.*, (2002), Bray *et al.*, (2008), Jones *et al.*,
31 (2005) e Thatcher (2006).

32

33 **Análises estatísticas**

1 Os termos ecológicos utilizados (Prevalência, Intensidade Média e Abundância
2 Média) são os recomendados por Bush *et al.*, (1997). O software Quantitative
3 Parasitology 3.0 foi utilizado para determinar os índices de dispersão (ID) e discrepância
4 (D), sendo o índice de dispersão testado através do teste estatístico- *d* de acordo com
5 Ludwig (1988). Para a estimativa de riqueza de espécies foram utilizados os indicadores
6 Jackknife 1, Chao1 e Chao2, sendo a diversidade parasitária calculada pelo índice de
7 diversidade de Shannon (H') (Nering and Von Zuben 2010). A diferença entre os
8 componentes das comunidades dos pontos amostrais foi testada pela análise de
9 componentes principais (PCA) com auxílio do programa Prime 3.0.

10 Para o cálculo do fator de condição relativa (Kn) foi usada a equação $Kn = wt/we$.
11 Os dados de CT e PT foram logaritmizados sendo calculado o peso esperado pela equação
12 $We = a.(Cpb)$ de acordo com Vazzoler (1981), para os testes o Kn padrão foi considerado
13 igual a 1.00 em conformidade com Le Cren (1951). O teste de Mann-Whitney foi
14 utilizado para verificar possíveis diferenças entre o Kn observado e o Kn padrão, além
15 disso, o coeficiente de Spearman (rs) foi utilizado para verificar possíveis correlações
16 entre a abundância parasitária e a condição relativa (Kn observado) dos hospedeiros (Zar
17 2013).

18

19 **Resultados**

20 Foi identificado presença de parasitos em 97,2% da peixes examinadas, tanto no
21 Rio Amazonas quanto no Rio Tapajós, 73 espécimes de *Plagioscion squamosissimus*
22 (Fig. 2) apresentaram infecção por pelo menos uma espécie de parasita, apenas um
23 hospedeiro de cada ponto amostral não apresentou infecção parasitária, sendo observado
24 uma predominância de hospedeiros com três e quatro espécies de parasitas.

25

26 **Fig. 2.** *Plagioscion squamosissimus* coletado na foz do rio Tapajós.

27

28 Um total de 3.483 parasitos (Myxozoários não quantificados) divididos em 13
29 espécies foram identificados, sendo 1.064 em peixes do rio Amazonas com média de
30 88,66 parasitas por peixe e 2.419 em hospedeiros capturados no rio Tapajós com 176
31 parasitas em média. O nematóide *Anisakis* sp. foi a espécie mais abundante,
32 correspondendo de forma geral a 92,1% dos parasitas identificados com prevalência
33 89.5% em hospedeiros do Rio Tapajós e 78.3% em peixes do Rio Amazonas. As
34 infracomunidades parasitas de *Plagioscion squamosissimus* apresentaram valores

1 variados para os índices de prevalência, intensidade média e abundância média (Tabela
2 1).

3

4 **Tabela 1.** Metazoários parasitos de *Plagioscion squamosissimus*. Prevalência (P%),
5 Intensidade Média (IM), Abundância Média (AM), Número total de Parasitos (NTP),
6 Sítio de Infecção (SI).

7

8 Quanto ao padrão de distribuição espacial das infracomunidades, com base no
9 teste estatístico-*d*, *Anisakis* sp. foi a única espécie a apresentar padrão aleatório de
10 dispersão, pois os demais parasitos tiveram dispersão agregada (Tabela 2).
11 *Austodiplostomum compactum* apresentou padrão de distribuição diferenciada para os
12 dois rios, com dispersão aleatória para o Lago Grande do Curuáí e agregada para o rio
13 Tapajós. As infracomunidades de *Pseudoproleptus* sp., os Myxozoários *Myxobolus* sp.,
14 *Ceratomyxa* sp., *Henneguya* sp. e o crustáceo *Therodamas* sp., não atingiram índices
15 suficientes para o cálculo de dispersão em hospedeiros provenientes do Lago Grande do
16 Curuáí, no entanto apresentaram dispersão variada em peixes do rio Tapajós. (Tabela 2).

17

18 **Tabela 2.** Índice de dispersão (ID), Estatístico-*d* (*d*) e Índice de discrepância (D) para
19 metazoários parasitos de *Plagioscion squamosissimus* em dois rios da Amazônia
20 brasileira

21

22 Foi possível identificar 16 espécies de metazoários parasitos de *P.*
23 *squamosissimus* nos dois rios amostrados. De acordo com o estimador Jackknife1, o
24 número total de espécies parasitas foi estimado em 16,98 para os dois pontos, neste
25 sentido foi possível coletar 94,22% das espécies estimadas. No rio Amazonas foram
26 identificadas 12 espécies parasitas, representando 92,51% das espécies estimadas pelo
27 estimador Jackknife1. Os estimadores Chao 1 e Chao 2 apontam um acesso de 97,95 a
28 100% das espécies para este ponto de coleta. No rio Tapajós, foram identificadas 15
29 espécies de metazoários, sendo possível coletar 88,54% das espécies estimadas pelo
30 Jackknife1, além disso, os estimadores Chao 1 e Chao 2, estimaram o acesso de 93,75 a
31 100% respectivamente das espécies possíveis.

32

33 A análise multivariada (Fig. 3) revelou diferenças entre os componentes das
34 comunidades parasitárias em cada rio, onde é possível observar uma maior concentração
de frequências para o ponto situado no rio Tapajós, com nove espécies, já o ponto

1 amostrado no rio Amazonas destacou-se com maior frequências para três espécies:
2 *Procamallanus (S) sp.*, *Diplecanum sp.* e *Euryhaliotrema sp.*

3 Os população de hospedeiros coletados no rio Tapajós apresentaram uma menor
4 diversidade de metazoários parasitas ($H = 0,531$) quando comparados com a população
5 provenientes do rio Amazonas ($H = 0,991$) (Tabela 3). O teste de Mann-Whitney não
6 apresentou diferenças entre o Kn observado e o Kn padrão ($U = 0,14$, $p = 0,88$). Houve
7 uma correlação negativa, porém significativa ($r_s = -0,259$, $p = 0,024$) entre a intensidade
8 parasitária e o Kn, indicando que quanto menor a intensidade parasitária, maior os valores
9 do Kn observado.

10

11 **Fig. 3** Análise de componentes principais (PCA) das infra comunidades parasitas de *P.*
12 *squamosissimus* em dois rios da Amazônia brasileira.

13

14 **Discussão**

15 Neste estudo, registramos de forma inédita a infecção de *P. squamosissimus* por
16 representantes dos gêneros *Myxobolus*, *Ceratomyxa* e *Henneguya* na Amazônia
17 brasileira, porém estudos com uso de ferramentas moleculares para esclarecer a real
18 diversidade de espécies destes parasitas ainda são necessários. A presença de
19 myxozoários em *P. squamosissimus* ainda é pouco conhecida devido ao número escasso
20 de estudos direcionados para esta espécie hospedeira, no entanto os estudos de Oliveira
21 *et al.*, (2015) registram *Kudoa* spp. infectando o tecido muscular de espécimes
22 provenientes do distrito de Outeiro no estado do Pará.

23 A presença de metacercárias do trematoda *Austodiplostomum compactum*
24 parasitando os olhos de *P. squamosissimus* é amplamente conhecida, com registros em
25 várias regiões no território brasileiro, em hospedeiros nativos, introduzidos, invasores e
26 em regime de cultivo, neste sentido o presente estudo corrobora os resultados
27 apresentados por Martins *et al.*, (2002) em estudos realizados no reservatório de Volta
28 Grande no estado de Minas Gerais analisando 68 espécimes e observando uma
29 prevalência de 45,6%, os de Lacerda *et al.*, (2012) onde observou a ocorrência de
30 metacercárias em hospedeiros provenientes dos Rio Paraná analisando 35 hospedeiros, e
31 com os estudos de Albuquerque *et al.*, (2017) no lago do Catalão estado do Amazonas
32 onde observou uma prevalência de 100% em 15 hospedeiros analisados e os de Lopera
33 *et al.*, (2017) no rio Tietê, estado de São Paulo onde examinou 50 peixes estando todos
34 parasitados.

1 Quanto ao padrão de distribuição, foi observado um padrão agregado, o
2 corroborando os estudos realizados no rio Paraná por Machado *et al.*, (2005) e por
3 Albuquerque *et al.*, (2017) no lago do Catalão.

4 O registro de monogenéticos dos gêneros *Diplectanum* e *Euryhaliotrema* no
5 presente estudo corroboram os achados de Kritsky & Thatcher, (1984) no lago Janaunaca
6 no estado do Amazonas onde foram descritos cinco espécies de *Dicplectanum*, bem como
7 com os achado de Kritsky and Boeger (2002) que registraram espécies do gênero
8 *Euryhaliotrema* em hospedeiros do gênero *Plagioscion* em rios do Brasil, Peru,
9 Venezuela e México, e ainda com os dados apresentados por Lopera *et al.*, (2017) de *P.*
10 *squamosissimus* provenientes do rio Tietê onde foi registrada uma prevalência de 55,1 %
11 de infecção por *Diplectanum piscinarius*. *Diplectanum* e *Euryhaliotrema* apresentaram
12 padrão de distribuição uniforme nas infracomunidades dos dois pontos amostrais e padrão
13 agregado na análise unificada.

14 O presente estudo identificou a ocorrência de três espécies distintas de nematóides
15 parasitas, *Procamallanus (Spirocamallanus)* sp., larvas de *Anisakis* sp. e larvas de
16 *Pseudoproleptus* sp. O registro de *Procamallanus (Spirocamallanus)* sp. parasitando *P.*
17 *squamosissimus* corrobora os resultados apresentados por Lacerda *et al.*, (2012) que
18 observou uma prevalência de 2,8% em 35 hospedeiros provenientes do rio Tocantins.

19 Larvas de *Anisakis* sp. também já foram identificadas parasitando Corvinas em
20 rios do estado do Pará, corroborando os achados no presente estudo, Fontenelle *et al.*,
21 (2016) encontrou uma prevalência de 23,3% em peixes da bacia do Marajó e 28,57% em
22 hospedeiros na bacia do rio Tapajós, no rio Xingu Rabelo *et al.*, (2017) observou uma
23 prevalência de 100% nos peixes examinados. Segundo Kim *et al.*, (2016) a identificação
24 de nemátodos anisquídeos tem sido tradicionalmente conduzida por critérios
25 morfológicos, no entanto este método não é suficiente para uma identificação clara em
26 nível de espécie, uma vez que as características morfológicas de significância taxonômica
27 neste grupo são poucos, particularmente para as fases larvais sem características
28 diagnósticas confiáveis. As infracomunidades de *Anisakis* sp. apresentaram um padrão de
29 distribuição distintos para os pontos amostrados, sendo observado um padrão uniforme
30 para o rio Amazonas e aleatório para o rio Tapajós e para a análise unificada dos dois
31 pontos.

32 Este é o primeiro registro do nematóide *Pseudoproleptus* sp. em *P.*
33 *squamosissimus* na região amazônica. Melo *et al.*, (2011) realizou o primeiro registro de
34 infecção por *Pseudoproleptus* sp. em peixes, em estudos realizados com o Cichlidae

1 *Satanoperca jurupari* do rio Guamá, estado do Pará, no entanto estudos de dispersão,
2 possíveis hospedeiros e caracterização molecular deste nematóide ainda são necessários.
3 A infracomunidade de *Pseudoproleptus* sp. não alcançou índices de prevalência $\geq 10\%$,
4 não sendo possível realizar de forma confiável o cálculo do seu padrão de distribuição
5 para indivíduos coletados no rio Amazonas, já os espécimes coletados no rio Tapajós
6 apresentaram um padrão uniforme diferenciando-se do padrão de distribuição unificado
7 com valores correspondendo a um padrão agregado.

8 Foram identificadas duas espécies do filo Acanthocephala, ambas com baixa
9 prevalência, *Rhadinorhynchus plagioscionis* e *Neoechinorhynchus* sp. corroborando os
10 resultados apresentados por Lacerda *et al.*, (2012) em hospedeiros provenientes do rio
11 Solimões e Melo *et al.*, (2013) em estudos realizados no rio Guamá no estado do Pará.

12 Das três espécies de crustáceos identificadas no presente estudo, apenas o gênero
13 *Therodamas* tem registro conhecido para o hospedeiro *P. squamosissimus*, Amado and
14 Rocha (1996) descreveram *Therodamas tamarae* parasitando as brânquias de hospedeiros
15 provenientes do rio Araguaia. Até o momento não há relatos da ocorrência de *Ergasilus*
16 sp. e *Dolops* sp., sendo este o primeiro registro de parasitismo envolvendo esses
17 crustáceos e Corvinas na Amazônia brasileira. Os estimadores de diversidade apontam
18 que os esforço amostral alcançou quase em sua totalidade o número de espécies estimadas
19 para as diferentes infracomunidades parasitárias.

20 Seis novos registros de parasitas para *P. squamosissimus*, foram realizados no
21 presente estudo, sendo três myxozoários, um nematóide e dois crustáceos, segundo
22 Pavanelli *et al.*, (2013) e Rabelo *et al.*, (2017) as diferenças nos índices de diversidade
23 entre os dois rios pode estar relacionado a características bióticas e abióticas do ambiente,
24 bem como a presença dos parasitas e disponibilidade de vetores.

25 As diferenças observadas na multivariada se justificam pela ausência dos parasitas
26 *Pseudoproleptus* sp., *Rhadinorhynchus plagioscionis* e *Therodamas* sp. em hospedeiros
27 provenientes do rio Amazonas e a ausência de *Neoechinorhynchus* sp. em hospedeiros do
28 rio Tapajós. Apesar do número crescendo de estudos relacionadas a diversidade
29 parasitária, muitos grupos de parasitas ainda apresentam incongruências taxonômicas
30 devida a limitações na identificação taxonômica tradicional, sendo necessária aplicação
31 conjunta de ferramentas moleculares para esclarecimento da verdadeira diversidade de
32 parasitas que podem acometer os organismos aquáticos.

33

34 **Conflito de interesse**

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos de Darlison Chagas de Souza e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio financeiro ao projeto 14/22700-7 coordenado pelo Dr. Edson A. Adriano do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

Referências

Amado, M.A.P.M.C.E., Rocha, C.E.F., (1996): *Therodamas tamarae*, a new species of copepod (Poecilostomatoida: Ergasilidae) parasitic on *Plagioscion squamosissimus* (Heckel) from the Araguaia River , Brazil ; with a key to the species of the genus. *Hydrobiologia* 325:77 – 82. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00023669>

Albuquerque, N. B. D., Morey, G. A. M., Morais, A. M., & Malta, J. C. D. O. (2017). Metacercariae of *Austrodiplostomum compactum* (Lutz, 1928)(Trematoda, Diplostomidae) infecting the eyes of *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840)(Perciformes, Scienidae) from Lake Catalão, Amazonas, Brazil. *Acta Amazonica*, 47(2), 141-146. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4392201602474>

Amato, J.F.R., Boeger, W.A., Amato, S.B., (1991): Protocolos para laboratório coleta e processamento de parasitas do pescado. 1. ed. Serópedia: UFRRJ, 1991. 85p

Azevedo, R.K., Abdallah, V.D., and Luque, J.L., (2006): Ecologia da Comunidade de Metazoários Parasitos do Acará *Geophagus brasiliensis* (Quoy e Gaimard, 1824)(Perciformes: Cichlidae) do Rio Guandu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *ActaScientiarum. Biological Sciences* , 28, 403-411.

Boeger, W.A., Kritsky, D.C., (2009): Neotropical Monogenoidea. 54. proposal of *Aetheolabes* n. g. (Dactylogyrynea: Diplectanidae), with the description of *A. goeldiensis* n. sp. from the gills of “pescada” *Plagioscion* sp. (Teleostei: Sciaenidae)

- 1 in Brazil. *Syst Parasitol* 74:137–142. DOI: 10.1007/s11230-009-9193-7
- 2 Bray, R.A., Gibson, D.I., Jones, A., (2008): *Keys to the Trematoda Volume 3*. 1. ed.
3 London. CABI Publishing, 2008. 824p.
- 4 Casatti, L., (2005): Revision of the South American freshwater genus *Plagioscion*
5 (Teleostei, Perciformes, Sciaenidae), *Zootaxa* 64: 39–64.
- 6 Domingues, M.V., (2008): Phylogeny and revision of *Diplectanidae* Monticelli,
7 *Zootaxa*, 1903, 40:1–40. DOI: 10.1353/csd.2005.0060
- 8 Eiras, J.D.C., Takemoto, R.M., Pavanelli, G.C., (Org.): (2010) *Diversidade dos parasitas*
9 *de peixes de água doce do Brasil*. Maringa: Cliechetec, 2010. 333p.
- 10 Eiras, J.D.C., Takemoto, R.M., Pavanelli, G.C., (2006): *Métodos de estudo e técnicas*
11 *laboratoriais em parasitologia de peixes*. 2. ed. Maringá: Eduem, 2006. 199p.
- 12 Fontenelle, G., Knoff, M., Felizardo, N.N., (2016): *Anisakid larva parasitizing*
13 *Plagioscion squamosissimus* in Marajó Bay and Tapajós River, state of Pará, Brazil.
14 *Electron Braz J Vet Parasitol*, Jaboticabalv **25**:492–496. DOI: 10.1590/S1984-
15 29612016034
- 16 Gibson, D.I., Jones, A., Bray, R.A., (2002): *Keys to the Trematoda Volume 1*. 1. ed.
17 London. CABI Publishing, 2002. 521p.
- 18 Jones, A., Bray, R.A., Gibson, D. I., (2005): *Keys to the Trematoda Volume 2*. 1. ed.
19 London. CABI Publishing, 745p.
- 20 Ludwig, J.A.F.R., (1988): *Statistical Ecology: A Primer on Methods and Computing*,
21 Wiley-Inte. New York.
- 22 Kritsky, D. C., & Thatcher, V. E. (1984): Neotropical Monogenea. 6. Five new species
23 of *Diplectanum* (*Diplectanidae*) from freshwater teleosts, *Plagioscion*
24 spp.(*Sciaenidae*), in Brazil. *Proceedings of the Biological Society of Washington*
25 (USA).
- 26 Kritsky, D.C., Boeger, W.A, (2002): Neotropical Monogenoidea. 41: new and previously
27 described species of *Dactylogyridae* (Platyhelminthes) from the gills of marine and
28 freshwater perciform fishes (Teleostei) with proposal of a new genus and a
29 hypothesis on phylogeny. *Zoosystema*, v. 24, n. 1, p. 7-40

- 1 Kim, J. H., Nam, W. H., & Jeon, C. H., (2016); Genetic identification of anisakid
2 nematodes isolated from largehead hairtail (*Trichiurus japonicus*) in Korea.
3 *Fisheries and Aquatic Sciences*, 19(1), 26
- 4 Kohn, A., Fernandes, B.M, Cohen, S.C., (Org.) (2007): South American trematodes
5 parasites of fishes. 1. ed. Rio de Janeiro: FioCruz, 2007. 318p.
- 6 Lacerda, A.C.F., Takemoto, R.M., Tavares-Dias, M., (2012): Comparative Parasitism of
7 the Fish *Plagioscion squamosissimus* In Native and Invaded River Basins. *J Parasitol*
8 98:713–717. DOI: 10.1645/GE-2882.1
- 9 Lapera, I.M., Silva, A.C., Canônico, B.M., (2017): Metazoan parasites of *Plagioscion*
10 *squamosissimus*, an invasive species in the Tietê River, São Paulo, Brazil. *Rev Bras*
11 *Parasitol Veterinária* 26:143–151. DOI: 10.1590/s1984-29612017035
- 12 Le Cren ED., (1951): The length-weight relationship and seasonal cycle in Gonad weight
13 and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *Journal of Animal Ecology* 20:201-
14 219.
- 15 Machado, P.M., Takemoto, R.M., Pavanelli, G.C., (2005): *Diplostomum*
16 (*Austrodiplostomum*) *compactum* (Lutz, 1928) (Platyhelminthes, Digenea)
17 metacercariae in fish from the floodplain of the Upper Paraná River, Brazil. *Parasitol*
18 *Res* 97:436–444. DOI: 10.1007/s00436-005-1483-7
- 19 Martinez, J.M., Le Toan, T., (2007): Mapping of flood dynamics and spatial distribution
20 of vegetation in the Amazon floodplain using multitemporal SAR data. *Remote*
21 *Sens. Environ* 108: 209-223.
- 22 Martins, M. L., Paiva, A. D. M., Conceição, F., Fujimoto, R. Y., Canello Schalch, S. H.,
23 & Colombano, N. C. (2002): Prevalência, sazonalidade e intensidade de infecção
24 por *Diplostomum* (*Austrodiplostomum*) *compactum* Lutz, 1928 (Digenea,
25 *Diplostomidae*), em peixes do reservatório de Volta Grande, Estado de Minas
26 Gerais, Brasil. *Acta Scientiarum: Biological and Health Sciences*, 469-474.
- 27 Martins, M.L., Fujimoto, R.Y., Moraes, F.R.D., Andrade, P.M., Nascimento, A.A.D.,
28 Malheiros, E.B., (2000):. Description and prevalence of *Thynnascaris* sp. larvae
29 Dollfus, 1933 (Nematoda: Anisakidae) in *Plagioscion squamosissimus* Heckel, 1840
30 from Volta Grande Reservoir, State of Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de*
31 *Biologia*, 60(3), 519-526.

- 1 Melo, M. F. C., Giese, E. G., Santos, J. N., & Santos, C. P., (2011): First record of larval
2 *Pseudoproleptus* sp.(Nematoda: Cystidicolidae) in fish host. *Acta tropica*, 117(3),
3 212-215.
- 4 Melo, F.T.V., Rodrigues, R.A.R., Giese, E.G., (2014): Histopathologic aspects in
5 *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1940) induced by *Neoechinorhynchus*
6 *veropesoi*, metacestodes and anisakidae juveniles. *Brazilian J Vet Parasitol* 23:224–
7 230. DOI: 10.1590/S1984-29612014048
- 8 Melo, F.T.V., Silva, J.P., Gonçalves, E.C., (2013): Taxonomic status and redescription of
9 the genus *Brasicystis* Thatcher, 1979 (Digenea: Didymozoidae). *Parasitol Int*
10 62:208–214. DOI: 10.1016/j.parint.2013.01.001
- 11 Ministério da Pesca e Aquicultura M.P.A., (2013): Boletim Estatístico da Pesca e
12 Aquicultura Brasil 2011. Versão Prelim Brasília.
- 13 Moravec, F., & Santos, C. P., (2009): Larval *Pseudoproleptus* sp.(Nematoda:
14 Cystidicolidae) Found in the Amazon River Prawn *Macrobrachium amazonicum*
15 (Decapoda: Palaemonidae) in Brazil. *Journal of Parasitology*, 95(3), 634-639.
- 16 Nering, M., Von Zuben, C. J., (2010): Métodos quantitativos em parasitologia.
17 Jaboticabal: Fune
- 18 Oliveira, J. C. D., Velasco, M., Santos, P. D. F. S. D., Silva, J. M. V., Clemente, S. C. D.
19 S., & Matos, E. (2015). *Kudoa* spp.(Myxozoa) infection in musculature of
20 *Plagioscion squamosissimus* (Sciaenidae) in the Amazon region, Brazil. *Revista*
21 *Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 24(2), 235-240. DOI:
22 <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612015023>
- 23 Paes, J.V.K., Carvalho, E.D., Da Silva, R.J., (2010): Infection levels of
24 *Austrodiplostomum compactum* (Digenea, Diplostomidae) metacercariae in
25 *Plagioscion squamosissimus* (Teleostei, Sciaenidae) from the Nova Avanhandava
26 reservoir, so Paulo State, Brazil. *J Helminthol* 84:284–291. DOI:
27 10.1017/S0022149X09990617
- 28 Pavanelli, G. C., Takemoto, R. M., Eiras JC. 2013. *Parasitologia de Peixes de água doce*
29 *do Brasil*. Eduem, Maringá
- 30 Rabelo, N.L.F., Silva, T.C.M., Araujo, L.R.F., (2017): Detecção de larvas de Anisakidae

- 1 parasitando *Plagioscion squamosissimus* e *Pellona castelnaeana* no Estado do Pará,
2 Brasil. Acta Sci - Biol Sci 39:389–395. DOI: 10.4025/actascibiolsci.v39i3.35615
- 3 Ramos, I.P., Franceschini, L., Zica, E.O.P., (2014): The influence of cage farming on
4 infection of the corvine fish *Plagioscion squamosissimus* (Perciformes: Sciaenidae)
5 with metacercariae of *Austrodiplostomum compactum* (Digenea: Diplostomidae)
6 from the Chavantes reservoir, São Paulo State, Brazil. J Helminthol 88:342–348.
7 DOI: 10.1017/S0022149X13000229
- 8 Tavares, L.E.R., Saad, C.D.R., Cepeda, P.B., Luque, J.L., (2007): Larvals of *Terranova*
9 sp. (Nematoda: Anisakidae) parasitic in *Plagioscion squamosissimus* (Perciformes:
10 Sciaenidae) from Araguaia River, State of Tocantins, Brazil. Rev Bras Parasitol
11 veterinaria= Brazilian J Vet Parasitol 16:110–115
- 12 Tavares-Dias, M., Neves, L.R., Pinheiro, D.A., Oliveira, M.S.B., Marinho, R.G.B., (2013
13):Parasites in Curimata cyprinoides (Characiformes: Curimatidae) from
14 EasternAmazon, Brazil. Acta Scientiarum. Biological Sciences , 35, 595-601
15 DOI: <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v35i4.19649>
- 16 Tavernari, F.D.C., Bellay, S., Takemoto, R.M., (2005): Ecological aspects of
17 *Diplectanum piscinarius* (Platyhelminthes, Monogenea) parasite of gills of
18 *Plagioscion squamosissimus* (Osteichthyes, Sciaenidae) in the Upper Paraná River
19 floodplain, Brazil. 225–229
- 20 Travassos, L., Freitas, J.T.D., Kohn, A., (1969): Trematódeos do Brasil. Memórias do
21 Instituto Oswaldo Cruz 67: 1-886Thatcher VE. 1991. Amazon fish parasites. In:
22 Batista D, Sioli H (Org.). Amazoniana. Manaus: Inpa. Pp. 263–572.
- 23 Thatcher, V.E. (1979): *Brasicystis bennetti*. ACTA Amaz 9:747–749
- 24 Thatcher, V.E., (1980): *Rhadinorhynchus plagioscionis*. ACTA Amaz 10:835–839
- 25 Thatcher, V.E., (1991): Amazon fish parasites. In: Batista D, Sioli H (Org.). Amazoniana.
26 Manaus: Inpa. Pp. 263–572.
- 27 Thatcher, V. E., (2006): Amazon fish parasites (Vol. 1). Pensoft Publishers.
- 28 Vazzoler, A.E.A.M., (1981): Manual de métodos para estydis de biología de populações
29 de peixes; reprodução e crescimento. Brasília. CNPQ: 1981. 108p.

- 1 Yamaguti, S., Ward, J.B., (1963): *Systema helminthum* Volume 4. New York:
- 2 Interscience Publishers. 4. ed. New York. 1963. 699p
- 3 Woodland, W.N.F., (1935): Some new proteocephalids and ptychobothriid (Cestoda)
- 4 from the Amazon. *Proc Zool Soc London* 105:619–623.
- 5 Zar, J.H., (2013): *Biostatistical analysis: Pearson new international edition*. Pearson
- 6 Higher Ed.

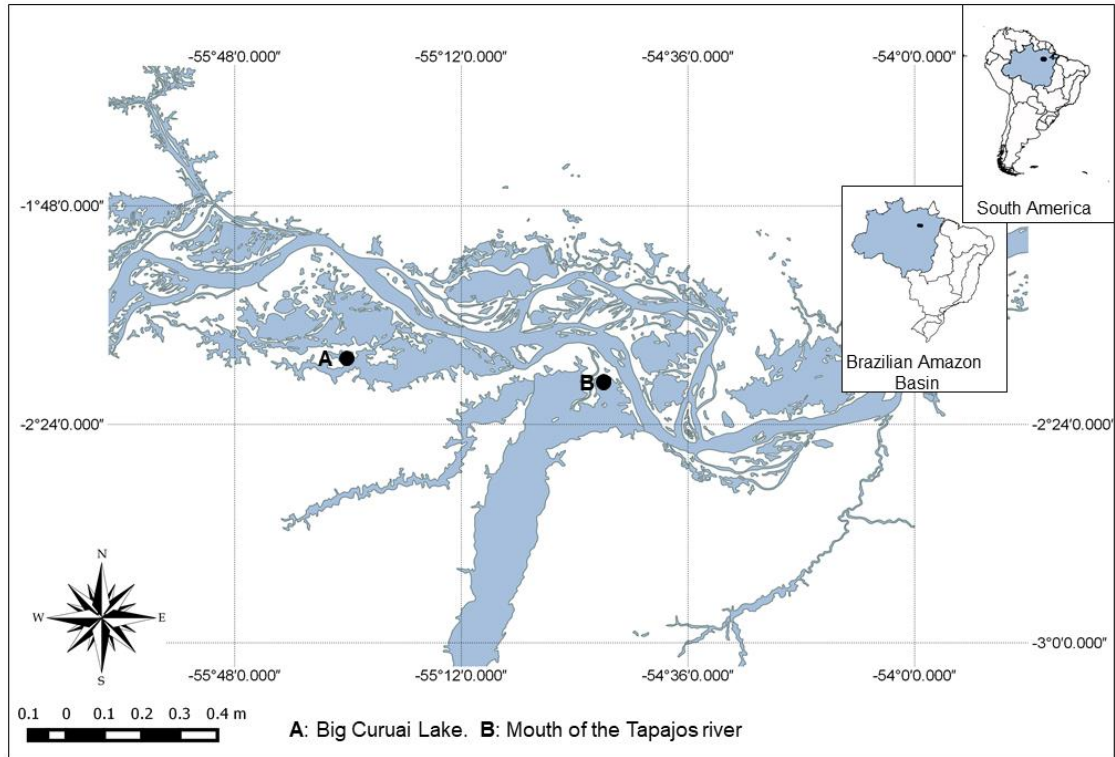


Fig. 1 Local e pontos de coleta dos peixes da espécie *P. squamosissimus* na Amazônia brasileira.



10 cm

Fig. 2. *Plagioscion squamosissimus* coletado na foz do rio Tapajós.

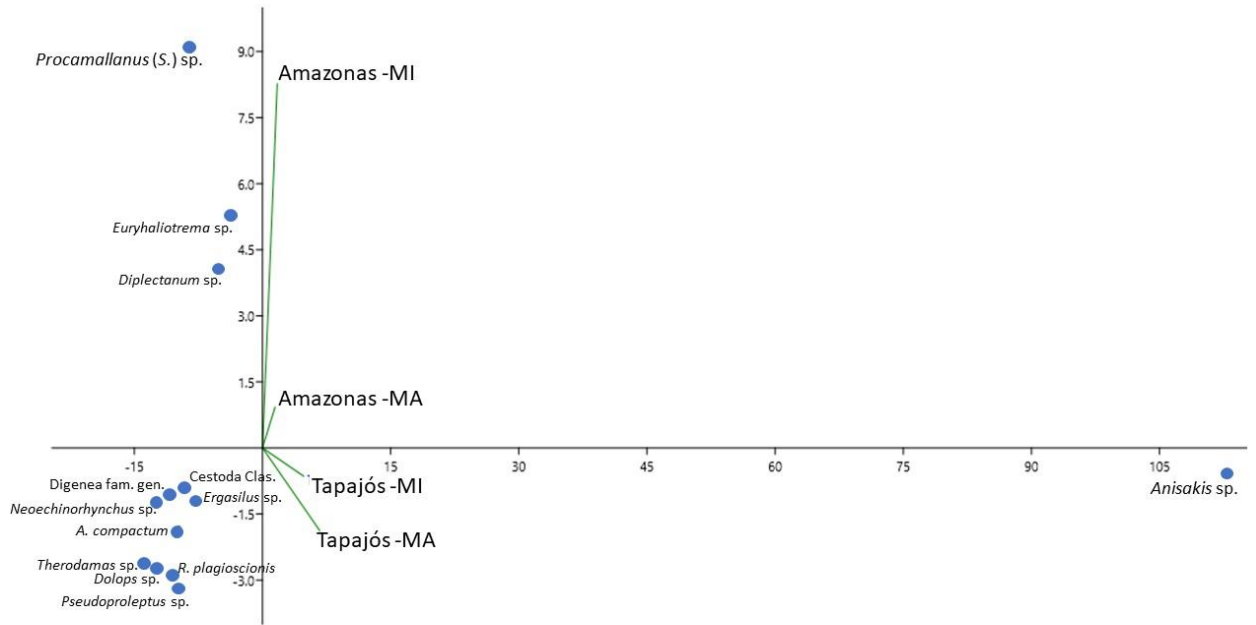


Fig. 3 Gráfico de dispersão da análise de componentes principais (PCA) das infra comunidades parasitas de *P. squamosissimus* em dois rios da Amazônia brasileira

Tabela 1. Metazoários parasitas de *Plagioscion squamosissimus* na Amazônia oriental, norte do Brasil. Prevalência (P%), Intensidade Média (IM), Abundância Média (AM), Número total de Parasitas (NTP), Sítio de Infecção (SI).

Espécies parasitas	Rio Amazonas (n = 37)					Rio Tapajós (n = 38)			
	P	IM	AM	NTP	SI	P	IM	AM	NTP
Myxozoa									
<i>Myxobolus</i> sp.	8.1	-	-	-		28.9	-	-	-
<i>Ceratomyxa</i> sp.	8.1	-	-	-		36.8	-	-	-
<i>Henneguya</i> sp.	5.4	-	-	-		36.8	-	-	-
Monogenoidea									
<i>Diplectanum</i> sp.	43.2	7.6	3.297	122	B	21.1	5.6	2.8	45
<i>Euryhaliotrema</i> sp.	21.6	9.3	2.027	75	B	31.6	5.8	4.1	69
Trematoda (Digenea)									
<i>Austodiplostomum compactum</i>	24.3	1.3	0.324	12	O	39.5	2.1	1.5	32
Digenea fam. gen. sp. (metacercariae)	16.2	1.8	0.297	11	B	7.9	1.7	0.5	5
Nematoda									
<i>Anisakis</i> sp.	78.3	27.2	21.378	791	I	89.5	71.1	96.9	2419
<i>Procamallanus</i> (S.) sp.	8.1	12.3	1.00	37	I	5.3	1.5	0.4	3
<i>Pseudopropleptus</i> sp.	-	-	-	-	-	28.9	2.1	1.2	23
Acantocephala									
<i>Rhadinorhynchus plagioscionis</i>	-	-	-	-	-	5.3	2.5	0.6	5
<i>Neoechinorhynchus</i> sp.	5.4	1.5	0.081	3	I	-	-	-	-
Cestoda									
<i>Ptychobothriidae</i> gen. sp.	2.7	2.0	0.054	2	I	2.6	3	0.5	3
Crustacea									
<i>Dolops</i> sp.	-	-	-	-	-	2.6	2	0.3	2
<i>Ergasilus</i> sp.	13.5	2.2	0.297	11	B	26.3	2.9	1.8	29
<i>Therodamas</i> sp.	-	-	-	-	-	10.5	1.3	0.4	5

Tipo de sítio de infecção: Brânquias (B), Olhos (O), Intestino (I), Líquido Biliar (Bi) e Rins (Ri).

Tabela 2. Índice de dispersão (ID), Estatístico -d (d) e Índice de discrepância (D) para metazoários parasitas de *Plagioscion squamosissimus* na Amazônia, norte do Brasil.

Espécies parasitas	Rio Amazonas (n = 37)				Rio Tapajós (n = 38)			
	ID	D	d	Tipo de dispersão	ID	D	d	Tipo de dispersão
<i>Austodiplostomum compactum</i>	0.96	0.758	0.504	Aleatória	2.2	0.721	4.949	Agregada
<i>Anisakis</i> sp.	11.18	0.501	20.562	Agregada	11.18	0.501	20.95	Agregada
<i>Diplectanum</i> sp.	4.79	0.693	10.761	Agregada	4.14	0.824	9.693	Agregada
<i>Euryhaliotrema</i> sp.	2.84	0.829	6.489	Agregada	4.14	0.824	9.693	Agregada
<i>Ergasilus</i> sp.	1.83	0.875	3.668	Agregada	2.46	0.793	5.682	Agregada
Digenea fam. gen. sp. (metacercariae)	1.84	0.847	3.700	Agregada	-	-	-	-
<i>Pseudoproleptus</i> sp.	-	-	-	-	2.37	0.784	5.433	Agregada
<i>Myxobolus</i> sp.	-	-	-	-	0.73	0.692	-0.460	Aleatória
<i>Ceratomyxa</i> sp.	-	-	-	-	0.65	0.615	-0.875	Aleatória
<i>Henneguya</i> sp.	-	-	-	-	0.65	0.615	-0.875	Aleatória
<i>Therodamas</i> sp.	-	-	-	-	1.3	0.887	1.998	Agregada

Capítulo 2

Título: Caracterização morfológica e molecular de *Anisakis* sp. parasita de *Plagioscion squamosissimus* da região do baixo Amazonas, Amazônia Brasil

Formatação de acordo com:

Folia Parasitologica.

QUALIS CAPES: B2.

Fator de Impacto 2017: 1.505.

ISSN 1803-6465.

1 **Caracterização morfológica e molecular de *Anisakis* sp. parasita de *Plagioscion***
2 ***squamosissimus* da região do baixo Amazonas, Amazônia Brasil**

3
4 **Darlison Chagas de Souza¹, Juliana Naldoni², Luís Reginaldo Ribeiro Rodrigues³, Edson**
5 **Aparecido Adriano², Lincoln Lima Correa⁴**

6
7 ¹Programa de Pós-graduação em Biodiversidade (PPGBEES), Universidade Federal do Oeste do
8 Pará. Avenida Mendonça Furtado, nº 2946, Fátima, CEP 68040-470, Santarém, PA, Brasil. Instituto
9 de Ciências e Tecnologia das Águas - ICTA, Santarém, PA, Brasil. E-
10 mail:darlisondcs@hotmail.com.

11
12 ²Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Rua
13 Professor Artur Riedel, 275, Jardim Eldorado, CEP 09972-270, Diadema, SP, Brasil.

14
15 ³Laboratório de Genética & Biodiversidade, Instituto de Ciências da Educação, Universidade
16 Federal do Oeste do Pará, Campus Tapajós. Rua Vera Paz S/N, Salé, CEP 68040-255, Santarém,
17 PA, Brasil.

18
19 ⁴Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA, Avenida Mendonça Furtado, nº 2946, Fátima,
20 CEP 68040-470, Santarém, PA, Brasil. Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas - ICTA,
21 Santarém, PA, Brasil.

22
23 **RESUMO**

24 *Plagioscion squamosissimus*, peixe conhecido popularmente como “Corvina” ou “Pescada
25 Branca”, tem ampla distribuição em grandes rios da América do Sul. Entre os parasitas dessa
26 espécie, já foram identificadas larvas de *Anisakis* sp. em indivíduos de diversos rios da bacia
27 amazônica. Entretanto, estes nematóides apresentam difícil identificação em nível específico devido
28 à ausência de características taxonômicas diagnósticas na fase larval de desenvolvimento. O
29 presente estudo tem por objetivo a caracterização morfológica e molecular *Anisakis* sp. parasitos da
30 corvina *Plagioscion squamosissimus* provenientes de rios da bacia amazônica brasileira. Foram
31 coletados e examinados 75 espécimes de corvina. Dos helmintos encontrados, vinte espécimes
32 foram utilizados para caracterização morfométrica, sendo fotografados e mensurados. A
33 identificação molecular foi baseada no sequenciamento dos genes 18S e COX1, obtidos a partir de
34 quatro indivíduos por localidade de coleta. Foi caracterizado o status taxonômico dos Helmintos
35 coletados em *P. squamosissimus* e sua classificação no gênero *Anisakis*. Sugere-se a existência de

1 um grupo de espécies crípticas nas duas regiões onde foram coletados os peixes infectados por
2 *Anisakis* sp.

3
4 **Palavras-chave** Corvina, endoparasitas, peixes, caracterização

5 6 **INTRODUÇÃO**

7 Corvina ou Pescada branca são as denominações dadas ao peixe Scianidae, *Plagioscion*
8 *squamosissimus*, que apresenta distribuição natural nas bacias hidrográficas sul-americanas (Casatti
9 2005). Considerado um importante recurso pesqueiro com aspectos esportivos e comercial, sendo
10 uma espécie introduzida no rio São Francisco e em reservatórios artificiais no nordeste do Brasil
11 (Pavanelli *et al.* 2013; Casatti 2003; Tavares *et al.* 2007). Várias espécies de parasitas já foram
12 registradas infectando indivíduos desta espécie tanto em ambiente natural quanto em reservatórios
13 artificiais (Vicente & Pinto 1999; Lacerda *et al.* 2012; Lopera *et al.* 2017).

14 Os nematóides da família Anisakidae (Skrjabin e Karokhin, 1945) são parasitos de diversos
15 organismos aquáticos, incluindo peixes, mamíferos marinhos e aves piscívoras, tendo uma
16 distribuição cosmopolita. Para a região amazônica já foi registrada a presença de larvas de *Anisakis*
17 sp. em peixes capturados na Ilha do Marajó, rio Tapajós e rio Xingu, apresentando variados índices
18 de prevalências (Anderson 2000; Rodrigues *et al.* 2015; Fontenelle *et al.* 2016; Rabelo *et al.* 2017).

19 De acordo com Saad *et al.* (2012), *Anisakis* se diferencia dos demais gêneros da família
20 Anisakidae por não possuírem ceco intestinal e apêndice ventricular e ainda pela presença do poro
21 excretor próximo aos lábios, características não observadas em *Contracaecum* sp. (Railliet &
22 Henry, 1912), *Hysterothylacium* sp. (Ward & Magath, 1917), *Raphidascaris* sp. (Railliet & Henry,
23 1915), *Terranova* sp. (LeiPer & Atkinson, 1914) e *Pseudoterranova* sp. (Mozgovoi, 1951).

24 A análise morfológica vem sendo usada como principal ferramenta na classificação de
25 espécies do gênero *Anisakis*, porém esse método é prejudicado devido as poucas características
26 morfológicas de alto valor diagnóstico para a taxonomia do grupo. Esta dificuldade se intensifica,
27 quando existe a necessidade de se realizar a classificação com base na morfologia das fases larvais
28 (Kim *et al.* 2006).

29 Atualmente, com base em dados genéticos, são válidas nove espécies de *Anisakis* divididas
30 em dois grupos. O subgrupo I é composto por *A. simplex sensu stricto*, *A. pegreffii*, *A. simplex* C, *A.*
31 *typica*, *A. ziphidarum* e *A. nascettii*, enquanto que, o subgrupo II é representado por *A. paggiae*, *A.*
32 *physeteris* e *A. brevispiculata*. No território brasileiro apenas as espécies *A. typica*, *A. pegreffii*, *A.*
33 *physeteris*, *A. simplex* e *A. brevispiculata* são registrados para a região costeira, sendo que, para a
34 região continental os registros limitam-se apenas ao reconhecimento do gênero (Mattiucci &
35 Nascetti 2008; Luque *et al.* 2010, 2011; Sardella & Luque 2016).

1 A identificação de larvas de anisakídeos no Brasil principalmente em águas continentais da
2 Amazônia ainda é muito limitado, com um número reduzido de estudos de abordagem taxonômica e
3 molecular, o que dificulta a identificação das espécies (Sardella & Luque 2016). O presente estudo
4 tem o objetivo de caracterizar de forma morfológica e molecular *Anisakis* sp. parasitos da corvina
5 *Plogioscion squamosissimus* provenientes de rios da bacia amazônica brasileira.

7 **METODOLOGIA**

8 Foram capturados 75 espécimes de *Plogioscion squamosissimus* em dois rios da bacia
9 Amazônica, no período de agosto de 2017 a março de 2018, as coletas ocorreram no Lago Grande
10 do Curuáí (2°13'1.81"S/ 55°30'21.74"O) uma planície inundável do rio Amazonas e na foz do rio
11 Tapajós (2°16'38.57"S/ 54°48'47.37"O), ambas no estado do Pará (Fig. 1). Nas coletas foram
12 utilizadas redes de espera, com malhas de variadas espessuras.

13
14 **Fig. 1.** Mapa de localização dos locais de coleta de *P. squamosissimus*. Ponto A- lago grande do
15 Curuáí e Ponto B- foz do rio Tapajós.

16
17 Após anestesiados e eutanasiados pelo método de transecção da coluna vertebral, os peixes foram
18 examinados com auxílio de estereomicroscópio, os parasitas encontrados foram fixados em álcool
19 absoluto e preservados para estudo morfométrico e caracterização molecular.

20 O presente estudo foi cadastrado, em conformidade com a legislação brasileira no Sistema
21 Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado do governo
22 brasileiro no número A0A0058 e as capturas dos hospedeiros autorizada pelo Sistema de
23 Autorização e Informação da Biodiversidade (SISBIO) através da autorização número 62384-2,
24 além disso, todos os procedimentos realizados estão de acordo com o Colégio Brasileiro de
25 Experimentação Animal – COBEA, aprovado pelo comitê de Ética de uso Animal da Universidade
26 Federal do Oeste do Pará – UFOPA, certificado 0420180027.

27 **Caracterização Morfológica**

28 Para a análise morfométrica foram separados 20 espécimes de parasitas, sendo 10 por
29 localidade de coleta. Os espécimes foram clarificados segundo Eiras et al (2006) e identificados
30 morfológicamente segundo Moravec (1998) e Thatcher (1991) sendo conservados em álcool e
31 preparados em lâminas temporárias, os espécimes foram analisados por microscopia de luz com
32 ampliação de 100 a 400x. As fotomicrografias foram processadas em microscópio Zeiss Axioplan
33 com câmera Axiocam ERc 5s.

34 Para determinar as características morfométricas foi empregado o Software Zen Blue
35 Edition 2, sendo realizadas as seguintes medidas: comprimento total do corpo, largura do corpo,

1 distância entre o anel nervoso e a extremidade cefálica, comprimento do esôfago e comprimento do
2 ventrículo. Os valores médios das regiões mensuradas foram comparados pelo índice de Bray-
3 Curtis para verificar possíveis similaridades morfométricas com os dados disponíveis na literatura
4 (ver: Fontenelle et al. (2016), Rabelo et al. (2017), Sardella & Luque (2016), Felizardo, et al.
5 (2009)). Os parâmetros de prevalência, abundância média e intensidade média foram calculados de
6 acordo com Bush et al. (1997).

7 **Extração de DNA, amplificação e sequenciamento**

8 A extração do DNA foi realizada com o kit Qiagen DNeasy® Blood & Tissue de acordo
9 com as instruções do fabricante, após a extração as amostras de DNA foram quantificadas e
10 visualizadas em gel de agarose a 2%. Fragmentos dos genes nuclear 18S (500bp) e mitocondrial
11 COX1 (574bp) foram amplificados por PCR utilizando-se o kit Qiagen PCR Master Mix. Para a
12 amplificação do gene 18S foram utilizados os primers Nem 18SF (5'-
13 CGCGAATRGCTCATTACAACAGC-3') e Nem18SR (5'-GGGCGGTATCTGATCGCC-3') de
14 acordo com Floyd et al. (2005). As reações em volume final de 20 µl foram constituídas por: 7,7µl
15 de água ultrapura, 10 µl de Master Mix Qiagen 2X, 0,4 µl de primer Nem18SF (5µM), 0,4 µl de
16 primer Nem18SR (5 µM) e 1,5 µl de DNA molde. As condições da PCR foram: [94°C/5min.,
17 (94°C/30seg., 54°C/30seg., 72°C/60seg., repetido 35X), 72°C/10min]. Para a amplificação do gene
18 Cox1 foram utilizados os primers LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') e
19 HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAT CA- 3') de acordo com Folmer et al.
20 (1994), para reações com volume final de 20 µl, sendo constituída por: 7,5 µl de água ultrapura, 10
21 µl de Master Mix Qiagen 2X, 0,4 µl de HCO2198 (5 µM), 0,4 µl de LCO1490 (5 µM), 1,5 µl de
22 DNA e 0,2 µl de *Taq* DNA polimerase (5U/µl) (Kappa Biosystems), e processada pelo seguinte
23 perfil de ciclagem: [94°C/3min., (94°C/50seg., 54°C/60seg., 72°C/60seg., repetido 35X),
24 72°C/5min].

25 Os produtos da PCR foram visualizados em gel de agarose a 2% para confirmação de
26 rendimento e as reações positivas foram posteriormente purificadas utilizando-se Polietilenoglicol
27 20% (PEG8000) protocolo adaptado de Dunn & Blattner (1987). As reações de sequenciamento
28 pelo método di-desoxiterminal de Sanger foram processadas com kit ABI PRISM® Big Dye™
29 Terminador V.3 (Applied Biosystems™) seguindo-se as instruções do fabricante. As reações foram
30 precipitadas pelo método Etanol/EDTA e ressuspensas em Formamida Hi-Di para aplicação
31 analisador genético ABI3500 (Applied Biosystems™).

32 As sequências de DNA obtidas foram alinhadas e analisadas utilizando o algoritmo
33 ClustalW (Thompson et al., 1994) da versão 7.1.3.0 do programa BioEdit, (Hall, 1999). As
34 sequências de nucleotídeos dos espécimes estudados foram submetidas a pesquisa *BLASTn* do
35 GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov).

1 Para avaliar a posição filogenética dos parasitos estudados, inicialmente a sequência foi
2 alinhada no programa MEGA V6 (Tamura et al., 2014), com o uso do algoritmo ClustalW. Em
3 seguida foi utilizado o mesmo programa para a performance da árvore filogenética de máxima
4 verossimilhança. Os platelmintos *Taenia solium* e *T. saginata* foram utilizadas como grupo externo
5 para esta análise. A tabela de matriz de similaridade ou divergência genética foi realizada
6 utilizando também o programa MEGA V6.

7

8 **RESULTADOS**

9 Um total de 3.210 espécimes de *Anisakis* sp. foram identificados, representando uma
10 prevalência de 84% com intensidade média de 57,58 e abundância média de 48,32.

11

12 **Descrição morfométrica**

13 **Família** Anisakidae Skrjabin e Karokhin, 1945

14 **Gênero** *Anisakis* Dujardin, 1845

15 **Espécie** *Anisakis* sp. (Fig 2).

16 **Hospedeiro:** *Plagioscion squamosissimus*

17 **Localidade:** Lago grande Curuáí, rio Amazonas (2°13'1.81"S/ 55°30'21.74"O) e Foz do Rio
18 Tapajós (2°16'38.57"S/ 54°48'47.37"O), Santarém, estado do Pará, Brasil.

19 **Local de infecção:** Intestino

20 **Prevalência:** 84%

21

22 **Fig. 2.** Larva de terceiro estágio de *Anisakis* sp. parasita de *Plagioscion squamosissimus*. **A** Visão
23 geral da região anterior. **B** Extremidade anterior com espinho larval presente. **C** Região posterior
24 mucro terminal presente

25

26 **Caracterização geral**

27 Larvas de terceiro estágio (Fig. 3), descrição com base em 20 espécimes (Tabela 1).
28 Comprimento total do corpo variado 10,9 a 16,4mm, largura do corpo de 0,160mm a 285mm,
29 apresenta forma cilíndrica com leve afilamento nas extremidades, tonalidade predominantemente
30 branca. Dente larval presente proximal a abertura oral (Fig. 3B). Anel nervoso próximo a
31 extremidade cefálica localizado 0,192 a 0,245mm da extremidade anterior (Fig. 3B). Esôfago com
32 0,961 a 1,250mm de comprimento (Fig. 3A), ventrículo de fácil visualização em forma oval
33 alongada de 0,358 a 0,569mm de comprimento (Fig. 3A). Cauda com formato cônico com mucro
34 terminal presente (Fig. 3C).

35

1 **Fig. 3.** Morfologia interna e externa de larva de *Anisakis* sp. (**NA** - Anel Nervoso, **E** – Esôfago, **V** –
2 Ventrículo, **DE** - Dente Larval, **PE** – Poro excretor, **M** – Mucro terminal).

3
4 **Tabela 1.** Morfometria de larvas de terceiro estágio de *Anisakis* sp. Comprimento do corpo - CC,
5 Largura do Corpo – LC, Distância entre o anel nervoso e a extremidade anterior – DA/EA,
6 Comprimento do esôfago – CE, Comprimento do Ventrículo – CV, Distância entre o anel nervoso e
7 o ventrículo DA/V, (medidas em mm).

8
9 As análises de similaridade morfométrica (Fig. 4) revelaram uma semelhança de 97,15%
10 entre as larvas de *Anisakis* sp. identificadas no presente estudo e as observadas por Rabelo et al.
11 (2017), e de 96,78% com os dados apresentados por Fontenelle et al. (2016), ambos de parasitas
12 provenientes de hospedeiras da região continental amazônica.

13 Quando comparado com *Anisakis simplex* registrado por Felizardo et al. (2009) de
14 hospedeiros do litoral do estado do Rio de Janeiro/Brasil a similaridade observada é de 92,97%, já
15 para as espécies *Anisakis brevispiculata* e *Anisakis typica* Sardella & Luque (2016) as semelhanças
16 morfométricas são de 20,52% e 52,61% respectivamente (Tabela. 2).

17
18 **Fig. 4.** Dendrograma de similaridade morfométrica entre larvas de terceiro estágio de *Anisakis* spp.

19
20 **Tabela 2.** Valores de contingência para análise de similaridade morfométrica de larvas de *Anisakis*
21 spp.

22 **Caracterização molecular e filogenia**

23 Neste estudo foram obtidas sequências parciais do gene 18S rDNA (550 pb) e COX1 (780
24 pb). A análise filogenética baseada no 18S rDNA foi obtida utilizando as sequências geradas nesse
25 estudo e aquelas das espécies mais proximamente relacionadas a elas, a partir das informações
26 obtidas na pesquisa *BLASTn*. Essa árvore revelou que as amostras de anisakídeos da Amazônia se
27 posicionaram em linhagens distintas daquelas de *Anisakis simplex* e *Anisakis pegreffii* (Fig. 5). A
28 matriz de similaridade, considerando as amostras de anisakídeos amazônicos mostrou variação
29 entre 0 e 2% (Tabela 3). Comparando as sequências das amostras amazônicas com aquelas de *A.*
30 *simplex* e *A. pegreffii*, a divergência variou de 4 a 6% (Tabela 3).

31
32 As sequências do gene COX1 do DNAm geradas neste estudo, foram analisadas juntamente
33 com outras sequências de anisakídeos descritos no Brasil (*Anisakis brevispiculata*, *A. simplex*, *A.*
34 *physeteris*, *A. pegreffii* e *A. typica*) através da análise filogenética baseada na máxima

1 verossimilhança. As sequências das larvas de anisakuídeos amazônicas compuseram uma linhagem
2 distintas daquelas das demais espécies de *Anisakis* descritas no Brasil (Fig. 6).

3

4 **Fig. 5.** Árvore Máxima Verossimilhança de *Anisakis* sp. com outras espécies de Nematoda baseado
5 no 18S rDNA, disponíveis no *GenBank*. Números acima dos ramos indicam o nível de
6 confiabilidade. (-) valores inferiores a 50.

7

8 **Tabela 3.** Matriz de similaridade, baseada na estimativa das divergências evolutivas entre as
9 sequências de 18S rDNA das espécies de *Anisakis*. O triângulo superior corresponde ao número de
10 bases que difere entre as espécies e o triângulo inferior corresponde à diferença genética em
11 porcentagem entre as espécies.

12

13 **Fig. 6.** Árvore Máxima Verossimilhança de espécies de *Anisakis* baseado no COX1, disponíveis no
14 *GenBank*. Números acima dos ramos indicam o nível de confiabilidade.

15 (-) valores inferiores a 50.

16

17 **DISCUSSÃO**

18 As larvas identificadas neste estudo apresentam as características morfológicas típicas do
19 gênero *Anisakis*, diferenciando-se dos demais anisaskídeos por estarem ausentes o ceco intestinal, o
20 apêndice ventricular e pela posição do poro excretor (Saad et al., 2012). O parasitismo por
21 representantes do gênero *Anisakis* em peixes no continente sul americano já é conhecido, com
22 registros em hospedeiros na região costeira brasileira, onde Felizardo et al. (2009) registrou *A.*
23 *simplex*, Sardella e Luque (2016), identificaram as espécies *A. brevispiculata* e *A. typica*, bem
24 como Di Azevedo e Iniguez (2018) registraram *Anisakis* sp., com ocorrência na Baía do Marajó
25 onde Rodrigues et al. (2015) relatou a presença de larvas de *Anisakis* sp. No presente estudo,
26 corroboramos a ocorrência de larvas de *Anisakis* sp. em hospedeiros secundários na região
27 continental amazônica tal como previamente demonstrado por Fontenelle et al. (2016) e Rabelo et
28 al. (2017).

29 A infecção por *Anisakis* sp. em *P. squamosissimus* pode apresentar taxas variadas de
30 prevalência, sendo observado valores baixos como os registrados por Rodrigues et al. (2015)
31 provenientes da Ilha de Colares (Baía do Marajó) com uma prevalência de 20%, bem como os
32 registrados por Fontenelle et al. (2016) em peixes advindos da Baía do Marajó e do rio Tapajós
33 23,33% e 28,57%, respectivamente. Neste sentido, o presente estudo corrobora os achados de
34 Rabelo et al. (2017) em hospedeiros do rio Xingu onde registrou altos índices de prevalência.

1 As larvas de *Anisakis* sp. submetidas ao estudo morfométrico apresentaram maior
2 similaridade com os dados de Rabelo et al. (2017) e Fontenelle et al. (2016) para *Anisakis* sp. e com
3 Felizardo et al. (2009) para *A. simplex*, tendo semelhança superior a 90%, distanciando-se
4 fortemente das espécies de *A. brevispiculata* e *A. typica* relatadas por Sardella e Luque (2016), com
5 similaridade entre 20% e 57%. Segundo Fortenelle et al. (2016) as larvas de *Anisakis* sp.
6 identificadas em seu estudo são morfologicamente semelhantes a *A. simplex* (Rudolphi,1809),
7 apesar de apresentarem sutis diferenças morfométricas.

8 As diferenças morfométricas observadas entre as larvas de terceiro estágio de *Anisakis* sp.
9 então segundo Fortenelle et al (2016) possivelmente relacionadas a diferenças nos hospedeiros ou
10 ainda, ligadas a diferenças entre as ecorregiões. Para Timi et al. (2001) tais diferenças ocorrem
11 devido a variações no desenvolvimento alométrico dos indivíduos. Ou ainda devido a limitação
12 espacial para o desenvolvimento larval nos hospedeiros intermediários primários ou por serem
13 espécies diferentes (Koie 1993).

14 Segundo Sardella e Luque (2016), o conhecimento de larvas de anisacídeos no Brasil ainda
15 é muito limitado, com escassos estudos de cunho taxonômicos e moleculares, não permitindo que
16 ocorra o registro da diversidade de espécies de determinados gêneros. O baixo número de
17 publicações se torna mais evidente quando comparado com a região continental amazônica, que
18 abriga uma grande variedade de peixes com potencialidade hospedeira para estes nematóides, os
19 escassos recursos tecnológicos, dificuldade logísticas e de amostragem ainda são fatores limitantes
20 para o avanço do conhecimento nesta região.

21 A identificação precisa de parasitas do gênero *Anisakis* é essencial para compreender sua
22 distribuição e epidemiologia. Qualquer avaliação na biodiversidade dos nematódeos anisacídeos
23 será incompleta se for inferida apenas a partir da morfologia, embora análise morfológica é
24 historicamente incongruente mesmo em considerações em alguns casos que mostram um grau
25 considerável de congruência com avaliações taxonômicas baseadas em análises moleculares
26 (Mattiucci et al., 2014). O que observamos em nosso estudo foi uma similaridade morfológica dos
27 espécimes de *Anisakis* sp. da Amazônia com *A. simplex*. A comparação das sequências 18S rDNA
28 das amostras amazônicas pelo *Blastn*, confirmou que as larvas de nematódeos aqui estudados
29 pertencem ao gênero *Anisakis*, mas a análise de similaridade mostrou, contudo que estas amostras
30 são geneticamente distintas de *A. simplex* (Tabela 1). A análise filogenética baseada no 18S rDNA
31 mostrou os espécimes de *Anisakis* amazônicos agrupando em linhagem distintas daquela de *A.*
32 *simplex* e *A. pegreffii*, apontando para a existência novos *taxa* de anisacídeos na Amazônia.
33 Contudo, vale ressaltar que as sequências *Anisakis* sp. do 18S rDNA aqui geradas foram de
34 aproximadamente 550 bp, consideradas curtas quando comparadas com as sequências de
35 aproximadamente 1500 pb outros nematódeos utilizadas na filogenia. Esforços estão sendo feitos

1 para obtenção de sequências mais longas para este marcador. A análise filogenética baseada no
2 marcador mitocondrial COX1 dos anisakídeos previamente encontrados no Brasil revelou que as
3 amostras amazônicas aqui estudadas, formando um clado único, e estes dados corroboram as
4 informações obtidas com o 18S rDNA.

5 Mattiucci et al. (2014) evidencia a necessidade de aplicação de vários marcadores
6 moleculares, não apenas para definir o status taxonômico das espécies de *Anisakis*, mas também
7 para sua identificação no nível de espécie, biologia, evolução, ecologia, bem como adaptações
8 diferenciais a vários tipos de hospedeiros, condições, e, finalmente, seu papel como agente
9 zoonótico a fim de apontar padrões e tendências na distribuição de *Anisakis*. No nosso estudo, por
10 usarmos apenas dois genes 18S e o Cox1, só pudemos caracterizar o status taxonômico, para
11 comprovar que os Helmintos coletados em *P. squamosissimus*, se tratava realmente de espécimes
12 do gênero *Anisakis*.

13 Como esse foi um estudo pioneiro em caracterização molecular de *Anisakis* sp. na
14 Amazônia, sugerimos para futuros estudos de *Anisakis* sp. o uso de outros marcadores, por
15 exemplo, marcadores moleculares como o gene mitocondrial da citocromo oxidase C subunidade 2
16 (COX2), a região intergênica ribossomal ITS-1 e ITS-2, 5.8 e também 28S, estudos estes, que
17 poderão ter como finalidade avaliar a independência genética de populações de *Anisakis* sp. na
18 Amazônia brasileira.

19

20 **Agradecimentos**

21 Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)
22 pela bolsa de estudo de Darlison Chagas de Souza e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de
23 São Paulo pelo apoio financeiro ao projeto 14/22700-7 coordenado pelo Dr. Edson A. Adriano do
24 Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). A Karen
25 Guimarães (UFOPA/LGBio) por auxiliar com procedimentos em laboratório.

26

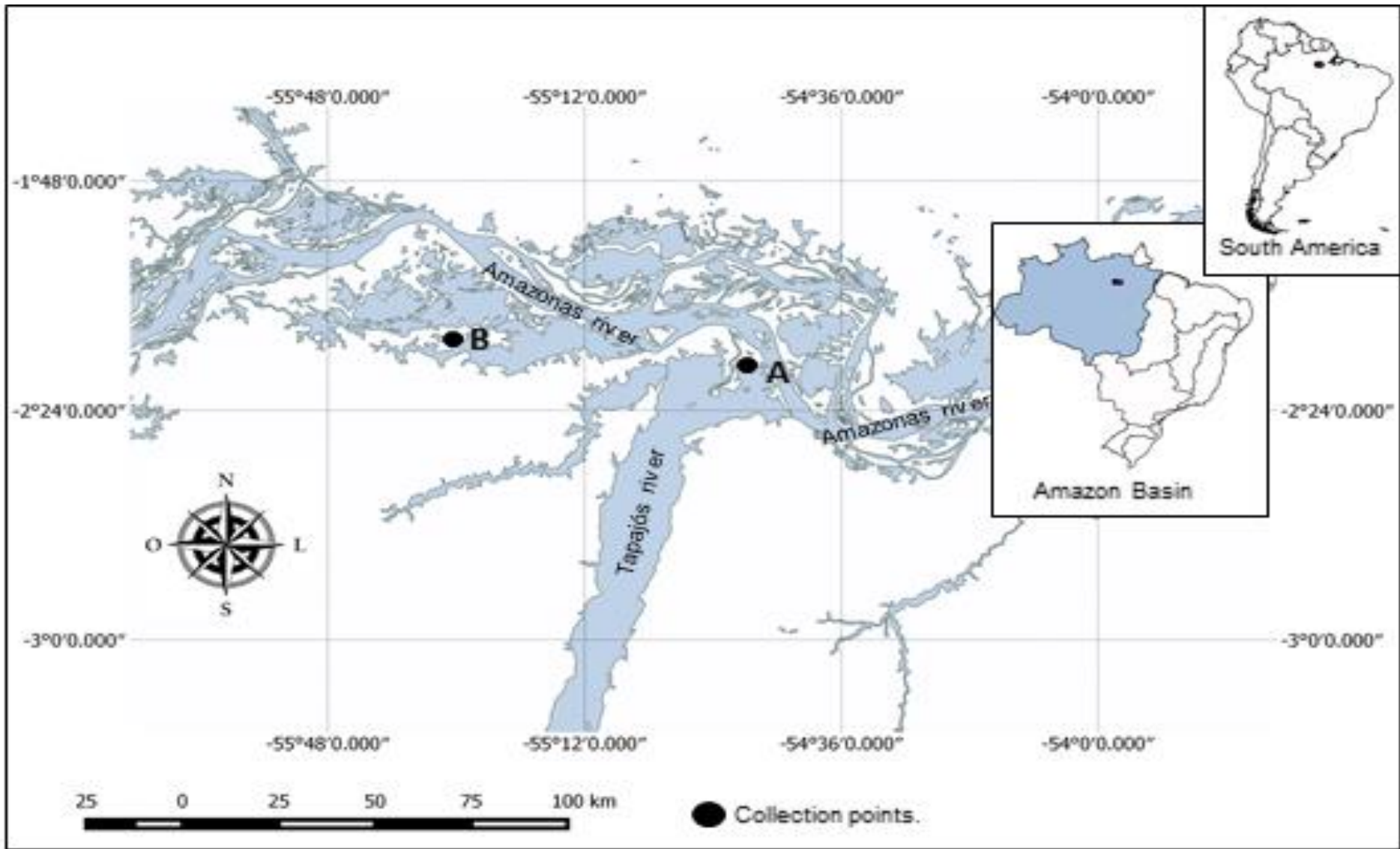
27 **Referências**

- 28 Anderson R.C, 2000: Nematode parasites of vertebrates. Their development and transmission. 2ed.
29 London: CAB Publishing.
- 30 Bush A.O., Lafferty K.D., Lotz J.M., Shostak A.W. 1997: Parasitology Meets Ecology on Its Own
31 Terms: Margolis et al., Revisited. The Journal of parasitology. 83(4), 575 - 583.
- 32 Casatti L. 2003: Sciaenidae (Drums or croakers). In R. E. Reis, S. O. Kullander, & C. J. Ferraris Jr.
33 Checklist of the freshwater fishes of South and Central America (p. 599- 602). Porto Alegre,
34 RS: Edipucrs.
- 35 Casatti L. 2005: Revision of the South American freshwater genus *Plagioscion* (Teleostei,

- 1 Perciformes, Sciaenidae) . Zootaxa 64: 39 - 64.
- 2 Dunn I.S., Blattner F.R. 1987: Sharoons 36 to 40: multi-enzyme, high capacity, recombination
3 deficient replacement vectors with polylinkers and polytuffers. Nucleic Acids Research 15:
4 2677 - 2698.
- 5 Di Azevedo M.I.N., Iñiguez A.M. 2018: Nematode parasites of commercially important fish from
6 the southeast coast of Brazil: morphological and genetic insight. International journal of food
7 microbiology, 267, 29-41.
- 8 Eiras J.D.C., Takemoto R.M., Pavanelli G.C. 2006: Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em
9 parasitologia de peixes. 2. ed. Maringá: Eduem. 199p.
- 10 Felizardo N.N., Knoff M., Pinto R.M., Gomes D.C. 2009: Larval anisakid nematodes of the
11 flounder, *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces: Teleostei) from Brazil. Neotropical
12 Helminthology, 3(2), 57-64.
- 13 Floyd R.M., Rogers A.D., Lamshead P.J.D., Smith C.R. 2005: Nematode-specific PCR primers
14 for the 18S small subunit rRNA gene. Molecular Ecology Notes, 5(3), 611-612.
- 15 Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R. 1994: DNA primers for the amplification of
16 mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Mol Mar
17 Biol Biotechnol 3: 294–299 Finalizar com ponto.
- 18 Fontenelle G., Knoff M., Felizardo N.N. 2016: Anisakid larva parasitizing *Plagioscion*
19 *squamosissimus* in Marajó Bay and Tapajós River, state of Pará, Brazil. Electron Braz J Vet
20 Parasitol, Jaboticabalv 25:492–496. doi: 10.1590/S1984-29612016034
- 21 Hall T. A. 1999: BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis
22 program for Windows 95/98/NT. In Nucleic acids symposium series (Vol. 41, No. 41, pp. 95-
23 98). [London]: Information Retrieval Ltd., c1979-c2000.
- 24 Lacerda A.C F., Takemoto R.M., Tavares-Dias M., Poulin R., Pavanelli G.C. 2012: Comparative
25 parasitism of the fish *Plagioscion squamosissimus* in native and invaded river basins. Journal
26 of Parasitology, 98(4), 713-718.
- 27 Lopera I.M., Silva A.C D., Canônico B M., Perezin G.D. F., Tebaldi J H., Pala, G., Hoppe E.G.L.
28 2017: Metazoan parasites of *Plagioscion squamosissimus*, an invasive species in the Tietê
29 River, São Paulo, Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 26(2), 143-151.
- 30 Luque J.L., Aguiar J.C., Vieira F.M., et al (2011) Checklist of Nematoda associated with the fishes
31 of Brazil
- 32 Luque J.L., Muniz-Pereira L.C., Siciliano S., Siqueira L.R., Oliveira M.S., Vieira F.M. 2010:
33 Checklist of helminth parasites of cetaceans from Brazil. Zootaxa, 2548(1), 57-68.
- 34 Kim K.H., Eom K.S., Park J.K. 2006: The complete mitochondrial genome of *Anisakis simplex*
35 (*Ascaridida*: Nematoda) and phylogenetic implications. International journal for parasitology,

- 1 36(3), 319-328.
- 2 Koie M. 1993: Aspects of the life cycle and morphology of *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi,
3 1802) (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae). *Canadian Journal of Zoology*, vol. 71, pp. 1289-
4 1293
- 5 Mattiucci S., Nascetti G. 2008: Advances and trends in the molecular systematics of anisakid
6 nematodes, with implications for their evolutionary ecology and host—parasite co-
7 evolutionary processes. *Advances in parasitology*, 66, 47-148.
- 8 Mattiucci S., Cipriani P., Webb S.C., Paoletti M., Marcer F., Bellisario B., Nascetti G. 2014:
9 Genetic and morphological approaches distinguish the three sibling species of the *Anisakis*
10 *simplex* species complex, with a species designation as *Anisakis berlandi* n. sp. for *A. simplex*
11 sp. C (Nematoda: Anisakidae). *Journal of Parasitology*, 100(2), 199-215.
- 12 Moravec F. 1998: Nematodes of freshwater fishes of the Neotropical Region. Academia,
13 Publishing House of the Academy of Sciences of the Czech Republic.
- 14 Pavanelli G.C., Takemoto R M., Eiras JC (Org.) 2013: *Parasitologia de Peixes de água doce do*
15 *Brasil*. 1. ed. Maringá: Eduem, . 452p.....(está fora da Ordem alfabética)
- 16 Rabelo N.L.F., Muniz e Silva, T.C., Ferreira Araujo., L.R., da Silva Pinheiro R H., Machado da
17 Rocha, C.A. 2017: Detecção de larvas de Anisakidae parasitando *Plagioscion squamosissimus*
18 e *Pellona castelnaeana* no Estado do Pará, Brasil. *Acta Sci - Biol Sci* 39:389–395. doi:
19 10.4025/actascibiols.v39i3.35615
- 20 Rodrigues M.V., Pantoja J.C.F., Guimarães C.D.O., Benigno R.N.M., Palha M.D.D.C., Biondi
21 G.F. 2015. Prevalence for nematodes of hygiene-sanitary importance in fish from Colares
22 Island and Vigia, Pará, Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 22(2).
- 23 Saad C.D.R., Vieira F.M., Luque J.L. 2012: Larvae of Anisakidae Skrjabin & Karokhin, 1945
24 (Nematoda, Ascaridoidea) in *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915 (Actinopterygii,
25 Lophiidae) from the Coastal Zone of the State of Rio De Janeiro, Brazil *Neotrop. Helmin-*
26 *thol.*, 6: 159–177.
- 27 Sardella C.J.D.R., Luque E.J.L. 2016: Diagnóstico morfológico e molecular de larvas de *Anisakis*
28 *typica* e *Anisakis brevispiculata* em peixes do litoral do Rio de Janeiro. *Rev Bras Med Vet*
29 38:87–98.
- 30 Tavares L.E.R., Saad C.D.R., Cepeda P.B., Luque J.L. 2007: Larvals of *Terranova* sp. (Nematoda:
31 Anisakidae) parasitic in *Plagioscion squamosissimus* (Perciformes: Sciaenidae) from Araguaia
32 River, State of Tocantins, Brazil. *Rev Bras Parasitol veterinaria - Brazilian J Vet Parasitol Org*
33 *o Of do Colegio Bras Parasitol Veterinária* 16:110–115 (
- 34 Timi J.T., Sardella N.H., Navone G.T. 2001: Parasitic nematodes of *Engraulis anchoita* Hubbs et
35 Marini, 1935 (Pisces, Engraulidae) of the Argentine and Uruguayan coasts, South West

- 1 Atlantic. *Acta Parasitol.*, 46: 186-193.
- 2 Thatcher V.E. 1991: Amazon fish parasites. *Amazoniana*, 11(3/4), 263-572.
- 3 Thompson J D., Higgins D.G., & Gibson, T.J. 1994: CLUSTAL W: improving the sensitivity of
4 progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap
5 penalties and weight matrix choice. *Nucleic acids research*, 22(22), 4673-4680.
- 6 Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. 2014: MEGA6: Molecular Evolutionary
7 Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12): 2725-2729.
- 8 Vicente J.J., Pinto R.M. 1999: Nematóides do Brasil: nematóides de peixes atualização: 1985-1998.
9 *Rev Bras Zool* 16:561–610.



1

2 **Fig. 1.** Mapa de localização dos locais de coleta de *P. squamosissimus*. Ponto A- lago grande do Curuáí e Ponto B- foz do rio Tapajós.

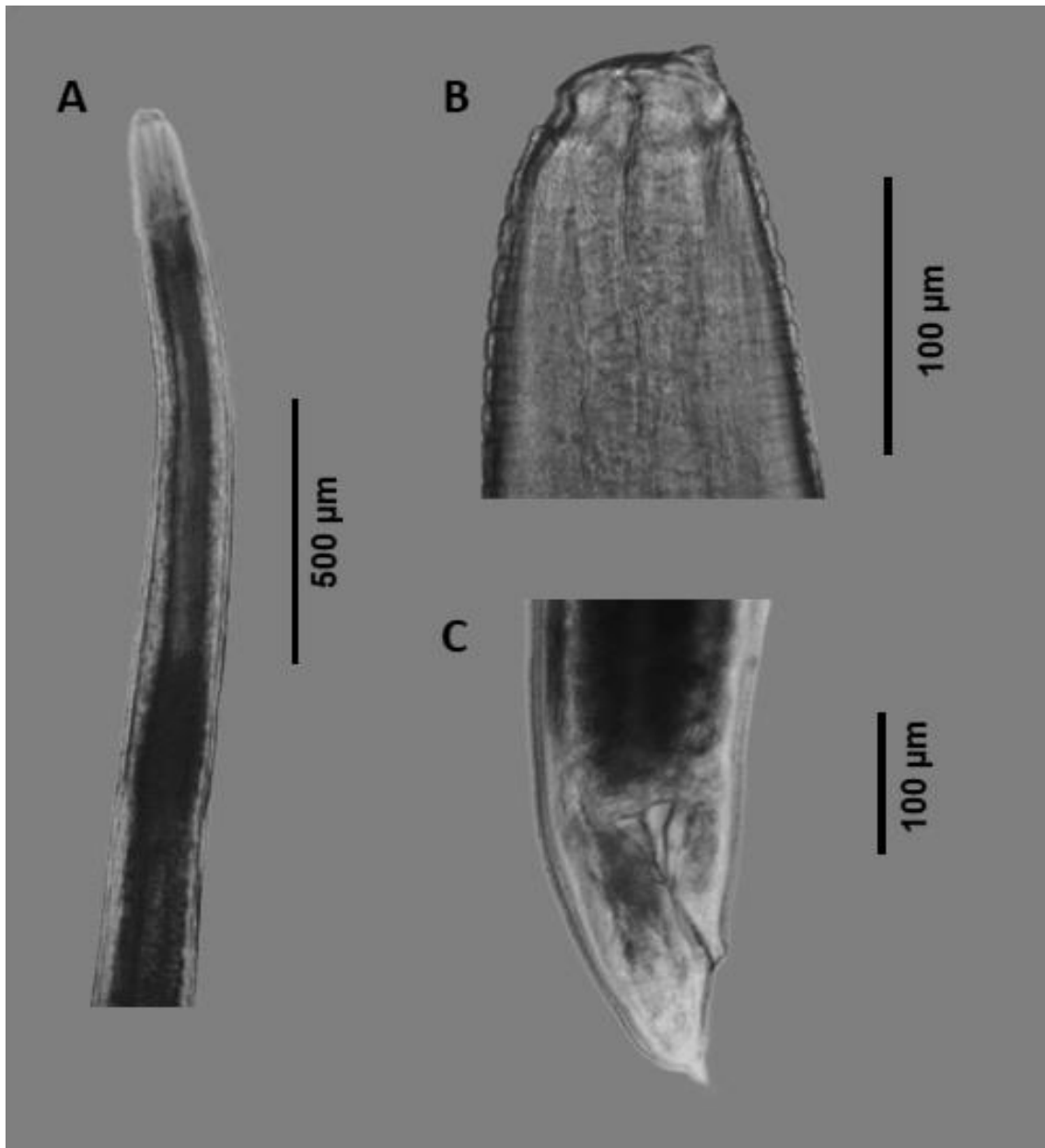


Fig. 2. Larva de terceiro estágio de *Anisakis* sp. parasita de *Plagioscion squamosissimus*. **A** Visão geral da região anterior. **B** Extremidade anterior com espinho larval presente. **C** Região posterior mucro terminal presente.

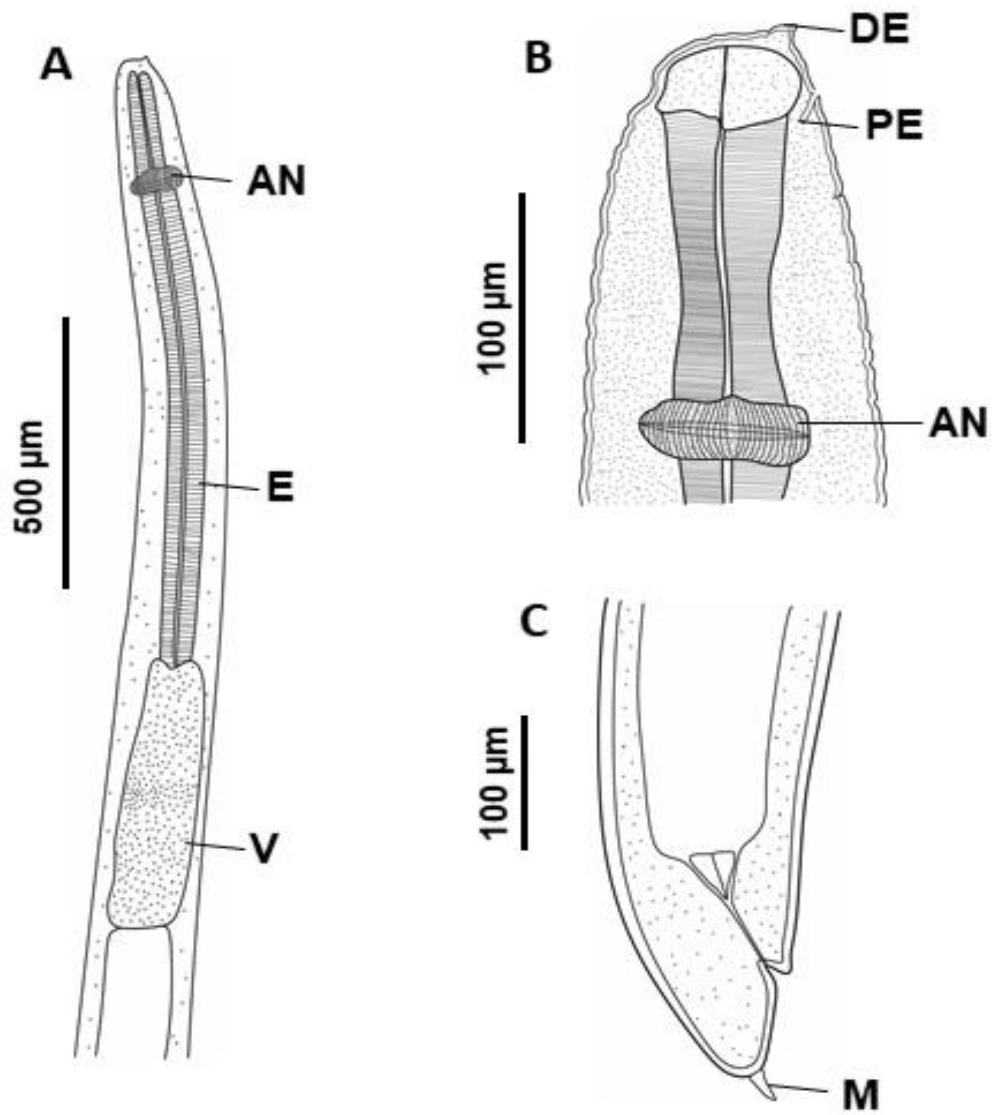
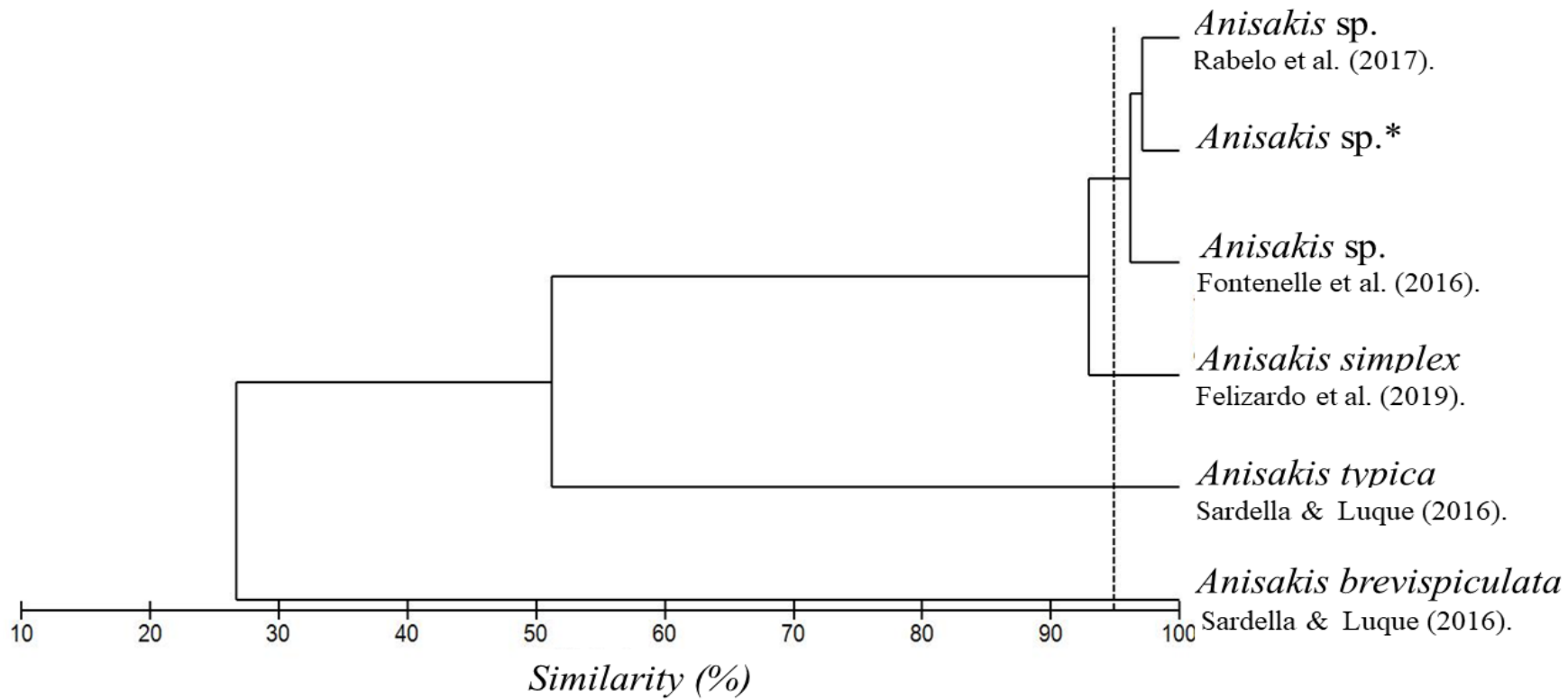
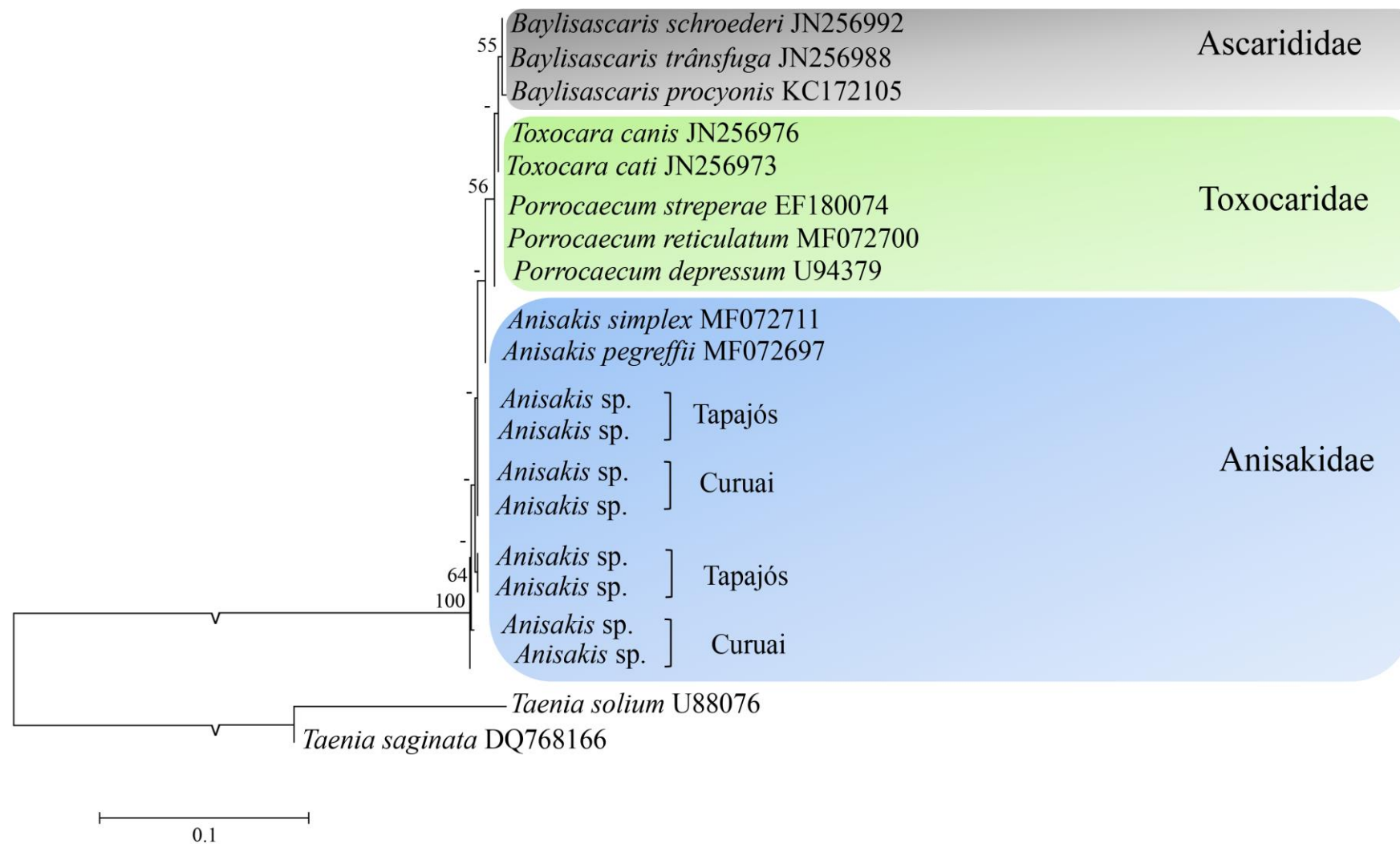


Fig. 3. Morfologia interna e externa de larva de *Anisakis* sp. (NA - Anel Nervoso, E – Esôfago, V – Ventrículo, DE - Dente Larval, PE – Poro excretor, M – Mucro terminal).



1

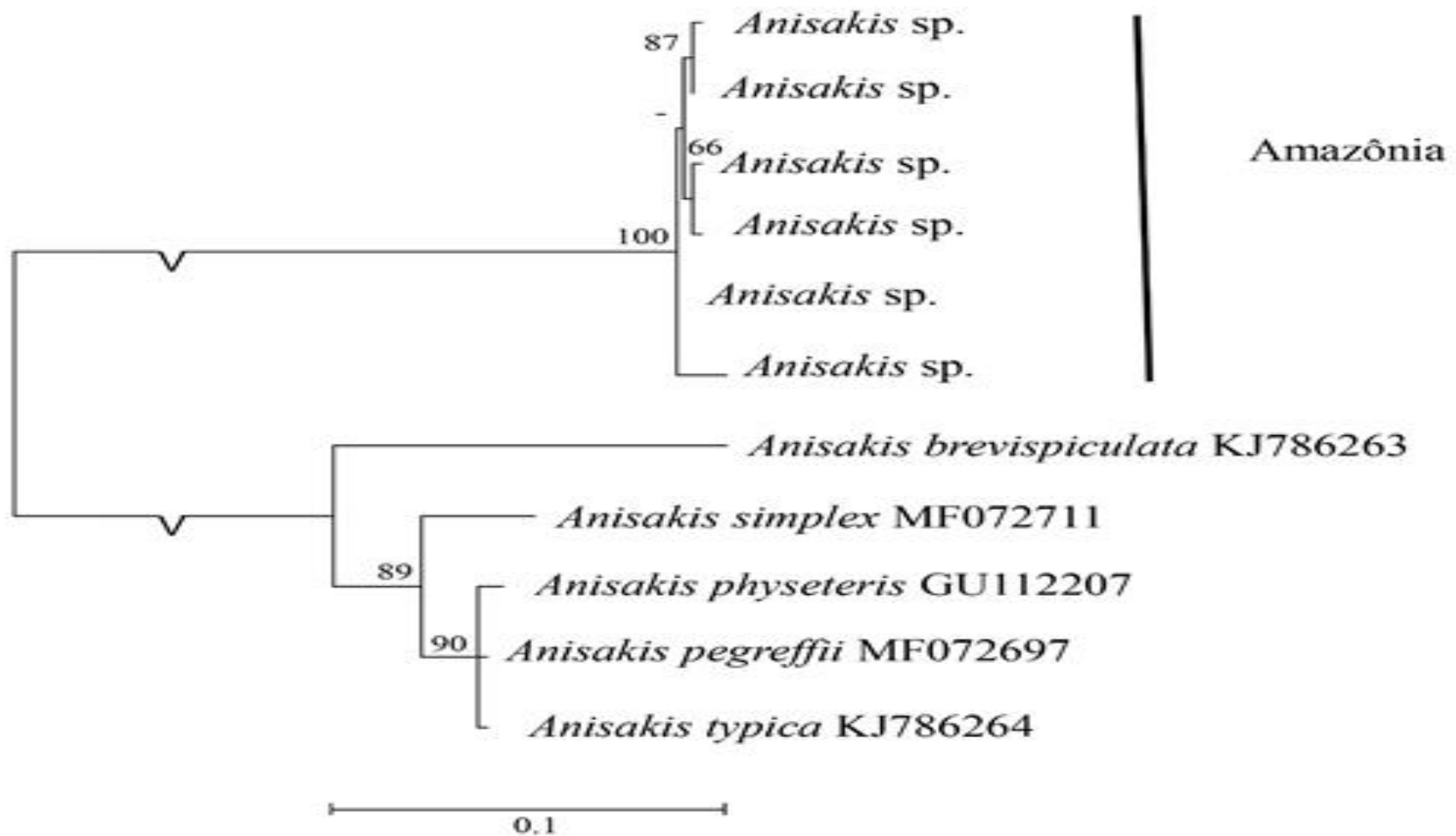
Fig. 4. Dendrograma de similaridade morfométrica entre larvas de terceiro estágio de *Anisakis* spp.



1

2 **Fig. 5.** Árvore Máxima Verossimilhança de *Anisakis* sp. com outras espécies de Nematoda baseado no 18S rDNA, disponíveis no *GenBank*. Números
 3 acima dos ramos indicam o nível de confiabilidade. (-) valores inferiores a 50.

4



1

2 **Fig. 6.** Árvore Máxima Verossimilhança de espécies de *Anisakis* baseado no COX1, disponíveis no *GenBank*. Números acima dos ramos indicam o
 3 nível de confiabilidade. (-) valores inferiores a 50.

1 **Tabela 1.** Morfometria de larvas de terceiro estágio de *Anisakis sp.* Comprimento do corpo - CC, Largura do Corpo – LC, Distância entre o anel
 2 nervoso e a extremidade anterior – DA/EA, Comprimento do esôfago – CE, Comprimento do Ventrículo – CV, Distância entre o anel nervoso e o
 3 ventrículo DA/V, (medidas em mm).

Regiões mensuradas	<i>Anisakis sp.</i> Presente estudo	<i>Anisakis sp.</i> Fontenelle et al. (2016)	<i>Anisakis sp.</i> Rabelo et al. (2017)	<i>Anisakis brevispiculata</i> Sardella & Luque (2016).	<i>Anisakis typica</i> Sardella & Luque (2016).	<i>Anisakis simplex</i> Felizardo et al. (2009)
CC	11,1 - 15,5	12.1 - 13.4	11,8 - 15,15	-	-	15.3 – 6,0
LC	0,160 - 0,286	0,270 - 0.360	0,186 - 0.266	0,347	0,253 -20,15	0,350 – 0,370
DA/EA	0,192 - 0,245	-	-	-	-	-
CE	0,961 - 0,250	0.980 - 1.40	0,673 - 1,026	1,455	1,120 - 1,681	1,530 – 1,620
CV	0,358 - 0,569	0.360 - 0.680	0,266 - 0,433	-	0,442 - 0,488	0,220 – 0,250

4

1 **Tabela 2.** Valores de contingência para análise de similaridade morfométrica de larvas de *Anisakis* spp.

	<i>Anisakis</i> sp. *	<i>Anisakis</i> sp. Rabelo et al. (2017).	<i>Anisakis</i> sp. Fontenelle et al. (2016).	<i>Anisakis brevispiculata</i> Sardella & Luque (2016).	<i>Anisakis typica</i> Sardella & Luque (2016).	<i>Anisakis simplex</i> Felizardo et al. (2009)
<i>Anisakis</i> sp. *	1	97.157	96.789	20.525	52.613	92.976
<i>Anisakis</i> sp. Rabelo et al. (2017).	97.157	1	95.525	19.156	49.363	92.760
<i>Anisakis</i> sp. Fontenelle et al. (2016).	96.789	95.525	1	22.115	53.665	93.271
<i>Anisakis brevispiculata</i> Sardella & Luque (2016).	20.525	19.156	22.115	1	46.976	24.959
<i>Anisakis typica</i> Sardella & Luque (2016).	52.613	49.363	53.665	46.976	1	49.399
<i>Anisakis simplex</i> Felizardo et al. (2009)	92.976	92.760	93.271	24.959	49.399	1

1 **Tabela 3.** Matriz de similaridade, baseada na estimativa das divergências evolutivas entre as sequências de 18S rDNA das espécies de *Anisakis*. O
 2 triângulo superior corresponde ao número de bases que difere entre as espécies e o triângulo inferior corresponde à diferença genética em porcentagem
 3 entre as espécies.

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	⁴
1- <i>Anisakis</i> sp. Tapajós	-	0	0	0	1	1	1	1	46	2	2	⁵
2- <i>Anisakis</i> sp. Tapajós	0.0	-	0	0	1	1	1	1	46	2	2	⁶
3- <i>Anisakis</i> sp. Curuai	0.0	0.0	-	0	1	1	1	1	46	2	2	
4- <i>Anisakis</i> sp. Curuai	0.0	0.0	0.0	-	1	1	1	1	46	2	2	
5- <i>Anisakis</i> sp. Curuai	0.2	0.2	0.2	0.2	-	1	1	1	46	3	3	
6- <i>Anisakis</i> sp. Curuai	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	-	1	1	46	3	3	
7- <i>Anisakis</i> sp. Tapajós	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	-	1	46	3	3	
8- <i>Anisakis</i> sp. Tapajós	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	-	46	3	3	
9- <i>Anisakis</i> sp. Curuai	8.5	8.5	8.5	8.5	8.5	8.5	8.3	8.3	-	47	47	
10- <i>Anisakis simplex</i> MF072711	0.4	0.4	0.4	0.4	0.6	0.6	0.6	0.6	8.7	-	0	
11- <i>Anisakis pegreffii</i> MF072697	0.4	0.4	0.4	0.4	0.6	0.6	0.6	0.6	8.7	0.0	-	

Anexos

FORMULÁRIO DE AVALIAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
Programa de Pós Graduação em Biodiversidade (PPGBEES)
<http://posgraduacao.ufopa.edu.br/ppgbees>

Identificação da Dissertação

Título

METAZOÁRIOS PARASITOS DE *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) (OSTEICHTHYES: SCIAENIDAE) DE LAGOS DE VÁRZEA DA AMAZÔNIA BRASILEIRA

Informações ao revisor

- A dissertação de mestrado é apresentada pelos alunos em até 24 meses de curso e já apresenta-se no formato exigido pelo programa.
- O prazo para avaliação é de 30 dias a partir do recebimento da dissertação em formato digital.
- Comentários, correções e sugestões podem ser feitas diretamente no arquivo do projeto ou em arquivo separado, a sua preferência. No caso dos arquivos PDF, podem ser adicionados comentários em trechos selecionados, por exemplo. O arquivo da dissertação comentada será enviado ao candidato e ao orientador. Este parecer não é enviado ao candidato e orientador.

DA AVALIAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Art. 57 - A Dissertação será julgada por uma Banca Avaliadora não presencial, que será sugerida pelo orientador e homologada pelo Colegiado, sendo constituída por 3 (três) avaliadores, sendo um deles obrigatoriamente externo ao curso, com título de doutor ou equivalente.

Parágrafo Único – O orientador e o discente encaminharão documento assinado sugerindo 5 (cinco) nomes de possíveis avaliadores pré-contactados, com seus respectivos endereço eletrônico e telefone.

Art. 58 - A avaliação da dissertação será requerida pelo candidato, com o aval do seu orientador, ao Colegiado do Programa, com um mínimo de trinta (30) dias de antecedência da data de defesa pretendida.

§ 1º – Para requerer avaliação da dissertação, o aluno deve apresentar comprovação de submissão de ao menos um artigo como primeiro autor, em co-autoria com orientador (ou orientador e co-orientador quando for o caso) em periódico avaliado pela CAPES, no sistema Periódico Qualis, nível B3 ou superior, na área do Programa.

§ 2º – O aluno deverá entregar ao Colegiado junto ao requerimento de avaliação, um arquivo digital da dissertação, para que seja encaminhada aos membros da Banca Examinadora.

Art. 59 - O Acadêmico que comprovar o aceite ou publicação de pelo menos um artigo resultante da sua dissertação, como primeiro autor, em co-autoria com orientador (ou orientador e co-orientador quando for o caso) em periódico avaliado pela CAPES, no sistema Periódico Qualis, nível A2 ou superior, na área do Programa, será dispensado da avaliação da dissertação, cabendo ao discente apenas a apresentação pública do trabalho conforme Art. 65 desse regimento.

DA APROVAÇÃO OU REPROVAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Art. 62 - Cada avaliador emitirá um parecer e indicará se a dissertação está Aprovada (A), Aprovada com Correções (AC), Necessita Revisão (NR) ou Reprovada (R).

I - Aprovado: indica que o revisor aprova a dissertação em correções ou com correções mínimas;

II - Aprovado com Correções: indica que o avaliador aprova o projeto com correções extensas, mas que a dissertação não precisa retornar ao avaliador para reavaliação;

III - Necessita Revisão: indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que o avaliador quer reavaliar a nova versão da dissertação antes de emitir uma decisão final;

IV - Reprovado: indica que a dissertação não é adequada, nem com modificações substanciais.

§ 1º - O Programa preservará o anonimato dos avaliadores da dissertação, exceto se o avaliador optar por se identificar na ficha de avaliação encaminhada ao discente e seu orientador.

Art. 63 – O Acadêmico será considerado aprovado caso ao menos dois membros avaliadores emitirem pareceres A ou AC.

Art. 64 – Em caso de reprovação poderá ser concedida, por recomendação dos avaliadores, uma segunda oportunidade ao candidato que, num período máximo de 30 (trinta) dias, a contar da data da avaliação, deverá submeter ao Colegiado a nova versão da dissertação para avaliação.

Parágrafo único – Em caso de não entrega da nova versão da dissertação à Secretaria do Programa no prazo estabelecido ou em caso de reprovação nesta segunda chance, o estudante será automaticamente desligado do curso.

Art. 65 - O Acadêmico que teve sua dissertação aprovada deverá apresentá-la em sessão pública com duração de 40-50 minutos, no prazo máximo de vínculo com o curso, ou seja, 24 meses desde o ingresso."

Comentários à coordenação do PPGBEES:

Avaliação final do projeto de dissertação de mestrado

I - Aprovado (X)

indica que o revisor aprova a dissertações em correções ou com correções mínimas

II - Aprovado com Correções ()

indica que o avaliador aprova o projeto com correção extensas,mas que a dissertação não precisa retornar ao avaliador para reavaliação

III - Necessita Revisão ()

indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que avaliadorquer reavaliar a nova versão da dissertação antes de emitir uma decisão final

IV - Reprovado ()

indica que a dissertação não é adequada, nem com modificações substanciais

Identificação do membro da banca:

Deseja identificar-se ao candidato e orientador(es): (X) Sim () Não

Data: 26/06/2019

Jose Flávio M. da Rocha.

Assinatura:

FORMULÁRIO DE AVALIAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
Programa de Pós Graduação em Biodiversidade (PPGBEES)
<http://posgraduacao.ufopa.edu.br/ppgbees>

Identificação da Dissertação

Título

METAZOÁRIOS PARASITOS DE *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) (OSTEICHTHYES: SCIAENIDAE) DE LAGOS DE VÁRZEA DA AMAZÔNIA BRASILEIRA

Informações ao revisor

- A dissertação de mestrado é apresentada pelos alunos em até 24 meses de curso e já apresenta-se no formato exigido pelo programa.
- O prazo para avaliação é de 30 dias a partir do recebimento da dissertação em formato digital.
- Comentários, correções e sugestões podem ser feitas diretamente no arquivo do projeto ou em arquivo separado, a sua preferência. No caso dos arquivos PDF, podem ser adicionados comentários em trechos selecionados, por exemplo. O arquivo da dissertação comentada será enviado ao candidato e ao orientador. Este parecer não é enviado ao candidato e orientador.

DA AVALIAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Art. 57 - A Dissertação será julgada por uma Banca Avaliadora não presencial, que será sugerida pelo orientador e homologada pelo Colegiado, sendo constituída por 3 (três) avaliadores, sendo um deles obrigatoriamente externo ao curso, com título de doutor ou equivalente.

Parágrafo Único – O orientador e o discente encaminharão documento assinado sugerindo 5 (cinco) nomes de possíveis avaliadores pré-contactados, com seus respectivos endereço eletrônico e telefone.

Art. 58 - A avaliação da dissertação será requerida pelo candidato, com o aval do seu orientador, ao Colegiado do Programa, com um mínimo de trinta (30) dias de antecedência da data de defesa pretendida.

§ 1o – Para requerer avaliação da dissertação, o aluno deve apresentar comprovação de submissão de ao menos um artigo como primeiro autor, em co-autoria com orientador (ou orientador e co-orientador quando for o caso) em periódico avaliado pela CAPES, no sistema Periódico Qualis, nível B3 ou superior, na área do Programa.

§ 2º – O aluno deverá entregar ao Colegiado junto ao requerimento de avaliação, um arquivo digital da dissertação, para que seja encaminhada aos membros da Banca Examinadora.

Art. 59 - O Acadêmico que comprovar o aceite ou publicação de pelo menos um artigo resultante da sua dissertação, como primeiro autor, em co-autoria com orientador (ou orientador e co-orientador quando for o caso) em periódico avaliado pela CAPES, no sistema Periódico Qualis, nível A2 ou superior, na área do Programa, será dispensado da avaliação da dissertação, cabendo ao discente apenas a apresentação pública do trabalho conforme Art. 65 desse regimento.

DA APROVAÇÃO OU REPROVAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Art. 62 - Cada avaliador emitirá um parecer e indicará se a dissertação está Aprovada (A), Aprovada com Correções (AC), Necessita Revisão (NR) ou Reprovada (R).

I - Aprovado: indica que o revisor aprova a dissertações em correções ou com correções mínimas;

II - Aprovado com Correções: indica que o avaliador aprova o projeto com correções extensas, mas que a dissertação não precisa retornar ao avaliador para reavaliação;

III - Necessita Revisão: indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que o avaliador quer reavaliar a nova versão da dissertação antes de emitir uma decisão final;

IV - Reprovado: indica que a dissertação não é adequada, nem com modificações substanciais.

§ 1º - O Programa preservará o anonimato dos avaliadores da dissertação, exceto se o avaliador optar por se identificar na ficha de avaliação encaminhada ao discente e seu orientador.

Art. 63 – O Acadêmico será considerado aprovado caso ao menos dois membros avaliadores emitirem parecer pareceres A ou AC.

Art. 64 – Em caso de reprovação poderá ser concedida, por recomendação dos avaliadores, uma segunda oportunidade ao candidato que, num período máximo de 30 (trinta) dias, a contar da data da avaliação, deverá submeter ao Colegiado a nova versão da dissertação para avaliação.

Parágrafo único – Em caso da não entrega da nova versão da dissertação à Secretaria do Programa no prazo estabelecido ou em caso de reprovação nesta segunda chance, o estudante será automaticamente desligado do curso.

Art. 65 - O Acadêmico que teve sua dissertação aprovada deverá apresentá-la em sessão pública com duração de 40-50 minutos, no prazo máximo de vínculo com o curso, ou seja, 24 meses desde o ingresso."

Comentários à coordenação do PPGBEES:

A dissertação apresentada tem conteúdo que precisa de melhorias profundas na redação, principalmente na introdução e discussão o artigo 1. Também sugere-se que seja análise estatística para comparação da prevalência, intensidade e abundância entre localidades estudadas

Avaliação final do projeto de dissertação de mestrado**I - Aprovado ()**

indica que o revisor aprova a dissertações em correções ou com correções mínimas

II - Aprovado com Correções (x)

indica que o avaliador aprova o projeto com correção extensas,mas que a dissertação não precisa retornar ao avaliador para reavaliação

III - Necessita Revisão ()

indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que avaliadorquer reavaliar a nova versão da dissertação antes de emitir uma decisão final

IV - Reprovado ()

indica que a dissertação não é adequada, nem com modificações substanciais

Identificação do membro da banca: Dr. Marcos Tavares Dias

Deseja identificar-se ao candidato e orientador(es): (x) Sim () Não

Data: 26/06/2019

Assinatura:

